



Université Pierre et Marie Curie



Dess : Gestion de la biodiversité
Méthodologies d'étude et de
valorisation des ressources génétiques

Territoire de Polynésie
Française



Ministère de l'agriculture et de
l'élevage.
Service du développement
rural



CIRAD-forêt

DIVERSITE DES POPULATIONS D'UNE ESPECE FORESTIERE EN POLYNESIE FRANCAISE : *SANTALUM INSULARE*, IMPLICATIONS POUR SA VALORISATION ET SA CONSERVATION



MEMOIRE DE STAGE

Responsables de stage :

- Jean-Marc Bouvet
- Jean-François Butaud

Fanny Rives

Septembre 2004

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont entouré pendant ce stage, qui ont été présentes pour répondre à mes questions.

Merci à Jean-Marc Bouvet et Jean-François Butaud pour leur disponibilité, leurs conseils et les discussions que nous avons pu aborder ensembles.

Merci à Jean-François pour le petit voyage en Polynésie !

Un grand merci à Alexandre Vaillant pour ses conseils, son soutien et pour sa patience inépuisable.

Merci à Nicolas Fauvet pour la réalisation des cartes.

Merci à Lorraine Bottin, toujours présente pour répondre aux questions, à Roselyne Lannes pour son soutien, ainsi qu'à toutes les personnes avec qui j'ai pu partager des moments au cours de ce stage : Mireille Poitel, Sophie Mountou, Sylvie, Marie, Emanuelle, Félix...

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
I- MENACES SUBITS PAR LE SANTAL DE POLYNESIE FRANCAISE	4
<u>A. BAISSSE D'EFFECTIF, DIMINUTION DE LA DISSEMINATION ET CONSEQUENCES SUR LES FLUX DE GENES.</u>	4
<u>B. DIMINUTION DE LA REPRODUCTION SEXUEE</u>	5
II- MATERIEL ET METHODES.....	7
<u>A. DESCRIPTION DE L'ESPECE</u>	7
1°) Description morphologique	7
2°) Répartition géographique.....	7
<u>B. ANALYSE MOLECULAIRE PAR MICROSATELLITES CHLOROPLASTIQUES</u>	8
1°) Échantillonnage.....	8
2°) Extraction d'ADN.....	9
3°) Les microsateellites chloroplastiques	9
a) Présentation.....	9
b) Utilisation sur le santal.....	10
4°) Analyse des données	10
<u>C. ANALYSE DE LA VARIATION DES CARACTERES QUANTITATIFS</u>	12
1°) Echantillonnage.....	12
2°) Analyse des données	13
a) Paramètres statistiques de base.	13
b) Estimation des composantes de la variance	13
c) Analyse des relations entre variation des caractères quantitatifs et données climatiques	15
III- RESULTATS	16
<u>A. MICROSATELLITES CHLOROPLASTIQUES</u>	16
1°) Diversité des chlorotypes.....	16
2°) Diversité inter-île inter-archipel.....	17
3°) Relation phylogénique et distribution géographique des haplotypes (à partir de l'analyse à 4 amorces).....	18
4°) Diversité intra-île (analyse avec 3 amorces).....	18
<u>B. CARACTERES QUANTITATIFS</u>	19
1°) Caractéristiques morphologiques de <i>Santalum insulare</i>	19
2°) Structuration de la diversité	20
a) Taille des graines	20
b) Taille des feuilles.....	20

3°) Corrélation entre caractères quantitatifs et données climatiques	20
a) Graines	21
b) Feuilles (figures F1 à F7 ; tableau 18, annexe 6)	21
 IV- DISCUSSION	 22
<u>A. DIVERSITE, STRUCTURATION ET FLUX DE GENES CHEZ LE SANTAL</u>	22
1°) Diversité	22
2°) Structuration inter-archipels	23
3°) Structuration intra-archipel	23
4°) Structuration intra-île.	24
<u>B. DISTRIBUTION DES CHLOROTYPES ET COLONISATION DU SANTAL SUR LES ILES DE POLYNESIE</u>	25
<u>C. VARIATION DES CARACTERES QUANTITATIFS</u>	28
1°) Structuration de la variation	28
2°) Facteurs expliquant la structuration de la variation	28
a) Structuration inter archipels	28
b) Structuration inter îles	29
c) Structuration intra île	29
Evolution de la taille des feuilles et des graines avec l'altitude, la pluviométrie et la température.	30
d) Structuration intra population	31
<u>D. PERSPECTIVES POUR LA CONSERVATION</u>	32
 CONCLUSION	 36

ANNEXES:

- Annexe 1: Protocole d'extraction d'ADN pour *Santalum insulare*
- Annexe 2: Protocole PCR pour microsatellites chloroplastiques
- Annexe 3: Préparation et révélation du gel d'acrylamide à 6 %
- Annexe 4: Conditions climatiques dans chaque population.
- Annexe 5: Cartes de répartition des chlorotypes au sein de chaque île.
- Annexe 6: Résultats des analyses de régression linéaire entre les caractères quantitatifs et les variables climatiques.
- Annexe 7: Matrice de distance entre les différentes îles de Polynésie française.
- Annexe 8: Résultats des tests de Bonferroni réalisés entre les archipels, îles et populations sur les moyennes des variables quantitatives.

INTRODUCTION



La gestion et la conservation de la biodiversité sont devenues un enjeu majeur dans la gestion des ressources naturelles. Cette prise de conscience des enjeux liés à la destruction des ressources naturelles s'est concrétisée par la ratification de la Convention sur la Diversité Biologique par de nombreux pays, lors du sommet de la Terre à Rio en 1992. Dans ce contexte, la surexploitation des systèmes forestiers tropicaux est une des principales préoccupations. Ces écosystèmes, dont certains sont des « Hots-spot » de biodiversité ont une valeur patrimoniale, culturelle et esthétique particulièrement importante et constituent des ressources potentielles sur le plan économique.

Parmi ceux-ci, les systèmes insulaires sont particulièrement sensibles aux perturbations causées par l'homme (surexploitation, introductions d'espèces exogènes). En effet, la limitation de l'espace disponible résulte en de petites populations, plus vulnérables face à l'exploitation. De plus, les communautés insulaires sont souvent isolées depuis longtemps et vivent dans des conditions très originales comparé à leurs ancêtres continentaux. Elles forment ainsi des ensembles coadaptés qui les rendent vulnérables à l'arrivée de toute nouvelle espèce plus performante, notamment celles introduites par l'homme (Blondel, 1995). L'isolement, la fragmentation et la faiblesse des effectifs les exposent aussi au phénomène de dérive génétique. La conjonction de ces facteurs entraîne la réduction de la diversité génétique des espèces, reconnue comme une garantie de leurs potentialités d'adaptation aux changements de l'environnement (Cavers, 2003).

Les îles de Polynésie française sont représentatives des milieux insulaires très fragmentés. Leur végétation présente un taux remarquable d'endémisme mais de nombreuses espèces sont menacées par la fragilité des écosystèmes face aux perturbations humaines : exploitation des forêts, destruction des habitats, introduction d'espèces invasives.... Parmi les espèces menacées, *Santalum insulare* suscite une attention particulière. Elle présente une valeur patrimoniale, culturelle, médicinale et rituelle qui en fait une espèce emblématique de la Polynésie française (Butaud et Tetuanui, 2003 ; Bianchini et al, 2003). La valeur économique de son bois de cœur a conduit à sa surexploitation. Les populations de santal ont donc été fortement réduites au XIX^{ème} siècle. Actuellement, en raison de la diminution des

effectifs ainsi que des problèmes de régénération liés à la prédation des graines par les rats, le santal est fortement menacé dans plusieurs îles.

L'évaluation de la diversité génétique est une clé importante pour le développement de stratégies de conservation (Newton *et al.*, 1999). Diverses approches complémentaires sont disponibles à cet effet, notamment l'écologie moléculaire et la génétique quantitative. La première, utilisée depuis une dizaine d'années permet de mettre en évidence la diversité des caractères neutres. Elle est utilisée pour étudier les forces évolutives de type dérive génétique et migration principalement, agissant à l'échelle des temps géologiques. Elle permet d'étudier l'histoire évolutive des populations et ainsi de nous informer sur les divergences éventuelles et les flux de gènes. L'approche quantitative, elle, est utilisée pour évaluer la variation des caractères soumis à la sélection naturelle, qui agit à une échelle de temps beaucoup plus courte.

Il existe plusieurs types de marqueurs moléculaires dont l'intérêt varie en fonction des objectifs d'analyse. Les microsatellites chloroplastiques sont bien adaptés pour décrire la structuration géographique des populations au niveau intra spécifique (Palmé and Vendramin, 2002). Par ailleurs, l'hérédité maternelle de l'ADN chloroplastique les rend intéressant pour étudier les mécanismes de colonisation chez les angiospermes. En effet, chez ces organismes, la colonisation de nouveaux espaces ne peut se faire que par les graines, la répartition spatiale du polymorphisme révélée par des marqueurs chloroplastiques rend compte de la dynamique de colonisation de l'espèce (De Vienne, 1998 ; Palmé and Vendramin, 2002 ; Andrianoelina *et al.* in press).

Afin d'établir une stratégie de conservation et de valorisation, le santal fait l'objet d'un projet mené en coordination entre l'université de Polynésie française, le Service du Développement Rural de Polynésie (SDR) et le Centre de Coopération International en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD). Un recensement et des collectes de matériel végétal ont été menés par le SDR. Ces échantillons ont fait l'objet d'une étude botanique et morphologique. Une thèse est en cours à l'université de Polynésie française sur la caractérisation des huiles essentielles du santal. Dans le cadre de ce stage, nous avons fait une analyse de diversité basée sur l'étude des microsatellites chloroplastiques et des caractères quantitatifs (graines et feuilles). L'utilisation de ces deux approches a eu pour objectif :

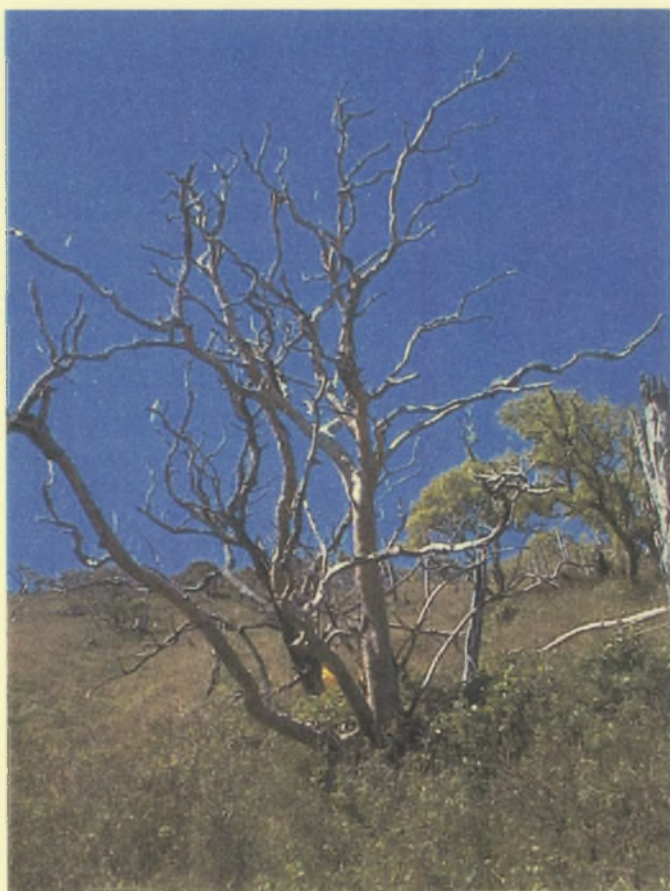


INTRODUCTION

- de quantifier la diversité moléculaire ainsi que le degré de structuration ;
- d'aborder les relations phylogénétiques entre les populations pour mesurer leur différenciation et proposer des hypothèses sur la colonisation du santal en Polynésie française ;
- d'étudier la répartition de la variation des caractères quantitatifs en relation avec les pressions de sélection du milieu ;
- enfin, de définir en combinant ces résultats, des recommandations pour la conservation de *Santalum insulare*.

Avant de présenter et commenter ces résultats, nous analyserons les menaces subies par les populations de santal afin de souligner les risques en milieu insulaire.

PRESENTATION DES MENACES SUBIES PAR LE SANTAL DE POLYNESIE FRANCAISE





LE SAINTE DE POLYNESIE FRANCAISE
PRESENTATION DES MENACES SUBIES PAR

A l'heure actuelle le santal est menacé par différents facteurs qui sont exacerbés par la vulnérabilité liée à l'insularité. Ces facteurs ont trois conséquences principales sur les populations de santal : une baisse d'effectif, une diminution de la dissémination et une réduction de la reproduction sexuée.

A. BAISSSE D'EFFECTIF, DIMINUTION DE LA DISSEMINATION ET CONSEQUENCES SUR LES FLUX DE GENES.

La principale cause de diminution des effectifs a été l'exploitation pour le bois de cœur. L'histoire de l'exploitation du santal en Polynésie française est essentiellement connue aux îles Marquises. Dans cet archipel, l'exploitation du bois de santal a commencé en 1811. Le santal servait en effet de monnaie d'échange aux européens pour la soie, la porcelaine et surtout le thé chinois. En 1826, la ressource en bois de santal était épuisée aux Marquises. Parallèlement, les îles de la Société furent également exploitées, mais, contenant moins de santal, elles furent rapidement épuisées. Enfin, durant les années 1820-1830, le santal fut recherché aux Australes. A partir de cette époque et jusque dans les années 1970, le santal subsistant n'a quasiment pas été exploité (sauf pour la fabrication du monoï). Mais depuis la fin des années 70, l'exploitation illégale s'est accélérée aux Marquises facilitée par l'ouverture de pistes dans l'intérieur des îles (Butaud et Tetuanui, 2003).

Par ailleurs, le feu est lui aussi responsable de la diminution des effectifs. Même s'il rejette de souche, les feux à répétition (accidentels et de plus en plus provoqués pour nettoyer le terrain) affectent les populations.

Enfin, les espèces insulaires sont particulièrement sensibles aux introductions. Les herbivores, essentiellement les caprins, bovins et équins détruisent les jeunes pousses, qu'elles proviennent de rejet ou de franc pied. En période de sécheresse, les chèvres s'attaquent même à l'écorce des jeunes santals. Elles sont certainement la cause de la disparition du santal à basse altitude à Nuku Hiva, Hiva Oa et Rapa. Les plantes envahissantes posent également un problème écologique majeur. Le santal est parfois victime de ces plantes qui l'étouffent et

l'éliminent par leur ombrage (*Spathodea campanulata* et *Paraserianthes falcataria* dans les îles de la Société, *Syzygium jambos* à Nuku Hiva et *Syzygium cumini* à Hiva Oa).

La réduction d'effectif a des conséquences sur le plan génétique, conduisant généralement à une perte de diversité. Une étude de Wikneswari sur cinq espèces forestières ayant des traits d'histoires de vie différents indique que la diversité génétique est réduite de 5 à 23 % après exploitation. En général, l'ordre de grandeur en nombre d'individus correspond à l'ordre de grandeur de réduction de la diversité (Wickneswari and Boyle, 2000). De plus, la réduction des effectifs renforce l'isolement des populations. Au sein et entre les îles, les flux de gènes diminuent.

Le maintien de la structure génétique dépend alors de la capacité de l'espèce à se disperser à travers les interfragments de matrice. Dans le cas présent, les capacités de dispersion semblent limitées. En effet, le santal est certainement disséminé par les oiseaux frugivores au sein et entre les îles. En Polynésie française, les seuls oiseaux actuels ayant la capacité de se nourrir de ces fruits appartiennent à la famille des pigeons (*Columbidae*). Deux genres sont présents : *Ducula* (2 espèces de carpophages) et *Ptilinopus* (pigeons verts). Les plus gros fruits observés aux Marquises mesurent quasiment 5 cm de diamètre et seuls les carpophages peuvent les ingérer. Aujourd'hui, à cause de la chasse et de l'introduction de prédateurs, les carpophages subsistent en nombre seulement à Nuku Hiva et à Makatea.

Ainsi, la réduction des flux va accentuer les effets de dérive affectant les petites populations (Young and Boyle, 2000) entraînant une perte d'allèles qui conduit souvent à une perte d'adaptabilité et de fitness (Wickneswari and Boyle, 2000). Enfin, l'isolement peut augmenter les taux de consanguinité. Le plupart des arbres forestiers sont allogames avec une autofécondation en général inférieure à 20 %. Ils doivent donc porter une forte charge d'allèles délétères récessifs. L'augmentation du taux d'homozygotes peut alors entraîner une grave dépression de consanguinité (Young and Boyle, 2000).

B. DIMINUTION DE LA REPRODUCTION SEXUEE

La prédation des graines par les rats constitue un fléau très inquiétant. Plusieurs espèces de rongeurs ont été introduites dans les îles de Polynésie depuis l'arrivée de l'homme, il y a environ 2000 ans. L'arrivée du rat polynésien (*Rattus exulans*) est contemporaine de

l'arrivée des polynésiens, tandis que celle du rat noir (*Rattus rattus*) date des premiers échanges avec les européens à la fin du XVIIIème siècle. Ces deux espèces sont présentes dans les populations de santal. Le rat détruit le fruit ayant quasiment atteint sa maturité pour consommer l'amande déjà formée dans la graine. Il est probable que le rat noir, plus arboricole et d'introduction plus récente soit le responsable de la majorité des dégâts. La quasi-totalité des fruits sont ainsi détruits. Ceci a pour conséquence une absence de régénération par reproduction sexuée. L'utilisation de raticides est devenue le seul moyen de protéger les graines.

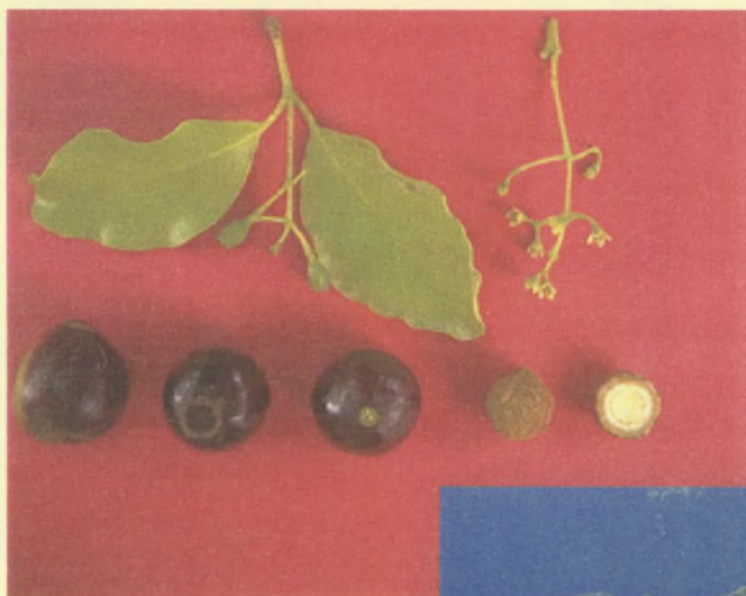
La reproduction sexuée est également affectée par les insectes qui détruisent les graines et les fleurs. Les fruits sont attaqués par des mouches des fruits (*Bactrocera sp*) et des punaises (*Leptoglossus australis*). Les fleurs, elles, semblent être attaquées par un coléoptère (*Protaetia fusca*). Enfin, l'introduction de pathogènes pourrait être la cause de mauvaise reproduction ou mauvais développement du santal. La fumagine a été mise en évidence à divers stades sur des santals des îles Marquises et de Tahiti. (Butaud et Tetuanui, 2003).

L'introduction d'espèces est donc aussi la cause de la diminution de la reproduction sexuée.

Ce phénomène constitue un problème majeur. Le moteur des flux de gènes est la reproduction sexuée par le mouvement des graines et des pollens. Si celle-ci est altérée, la restauration de la variabilité génétique ne peut donc pas avoir lieu et les populations ne peuvent pas se régénérer. En l'absence de régénération, les populations vont rapidement être représentées par des groupes de clones isolés ne présentant aucune variation génétique pour leur permettre de s'adapter à des perturbations biotiques ou abiotiques.

L'étude menée à l'aide des microsatellites chloroplastiques et des caractères quantitatifs va donc nous permettre d'évaluer comment ces différentes menaces affectent le santal de Polynésie française. La structuration génétique de la diversité mise en évidence par ces marqueurs, nous permettra de proposer des stratégies de gestion de l'espèce.

MATERIEL ET METHODES



II- MATERIEL ET METHODES

A. DESCRIPTION DE L'ESPECE

1°) Description morphologique

L'espèce étudiée est une Angiosperme dicotylédone de la famille des Santalacées. Le santal est un arbre qui a une forte capacité au rejet de souches. Ainsi, en raison de l'exploitation et des passages du feu à répétition, on le rencontre généralement sous forme d'arbustes résultants de ces rejets.

Les feuilles, très polymorphes, sont ovales ou elliptiques. Elles mesurent de 4 à 15 cm de long pour une largeur comprise entre 1.5 et 10 cm. Elles sont de couleur vert-jaune et ondulées pour les santals situés dans les zones les plus sèches de basse altitude et de couleur vert franc dans les altitudes plus hautes.

Les fleurs, composées de manière générale de quatre tépales, sont groupées en inflorescence trichotomique.

Les fruits et graines de *Santalum insulare* figurent parmi les plus grosses semences de toutes les espèces de santal existantes (jusqu'à 48 mm de longueur pour les fruits et 33 mm pour les graines). Cependant, les tailles sont très variables suivant les peuplements. Les fruits sont ronds, ovales ou en forme de poire. Les graines sont rondes ou ovales (Butaud et Tetuanui, 2003).

2°) Répartition géographique

Le genre *Santalum* comprend une quinzaine d'espèces, toutes hémiparasites, dont l'aire de répartition s'étend dans la zone intertropicale Indo-Pacifique, de l'Inde aux îles Juan Fernandez (Chili) et d'Australie à Hawaii (Bianchini et al, 2003). *Santalum insulare* est réparti sur trois archipels de Polynésie française : les Marquises, la Société et les Australes (voir figure 1) ainsi que sur les îles Cook (Mitiaro) et les îles Pitcairn (Henderson). Cette espèce est constituée en Polynésie française de 7 variétés distinguées sur des critères botaniques (Butaud et Tetuanui, 2003) qui sont aujourd'hui remises en question suite à des observations et des études pluridisciplinaires (Bianchini et al, 2003).

Figure 1 : Répartition de *Santalum insulare* dans les îles de Polynésie française

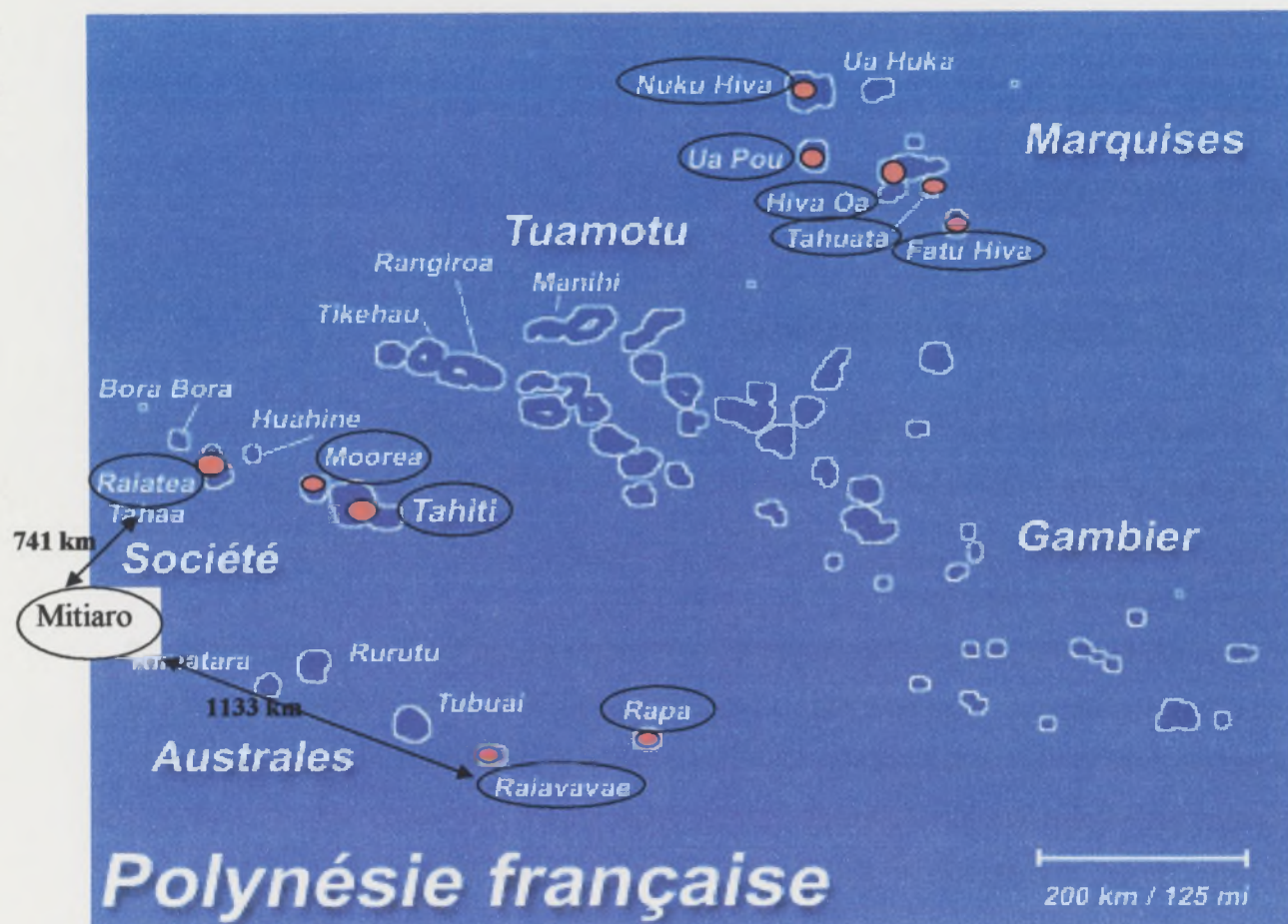


Tableau 1 : description des îles et échantillonnage des feuilles pour l'analyse par microsatellites dans chacune des îles

Archipel	Ile	Lat. sud	Long. ouest	Point culminant (m)	Nombre de populations	Nombre d'individus/île	Nombre d'individus /archipel
Marquises	Fatu Hiva	10°29''	138°39''	1125	2	4	219
	Hiva Oa	9°45''	139°	1276	4	46	
	Nuku Hiva	8°49''	140°12'	1224	9	131	
	Tahuata	9°56''	139°06''	1050	8	29	
	Ua Pou	9°25''	140°05''	1203	4	9	
Société	Moorea	17°35''	149°50''	1207	3	87	213
	Raiatea	16°43''	152°28''	1017	2	27	
	Tahiti	17°34''	149°56''	2241	13	99	
Australes	Raivavae	22°53''	147°39'	439	15	51	65
	Rapa	27°38''	144°20''	650	2	14	

Ce sont les îles Marquises qui présentent le plus grand nombre de populations et de pieds de santal. Autrefois présent sur les six îles principales de l'archipel, le santal n'a pas été retrouvé sur Ua-Huka, malgré de multiples prospections. Il est également rare à Fatu Hiva, Ua Pou et Hiva Oa où les peuplements ont été victimes de l'exploitation, du feu et de la recolonisation par *Casuarina equisetifolia*. Il est plus commun sur Tahuata et ne subsiste en quantité importante qu'à Nuku Hiva.

A Tahiti, Moorea et Raiatea (Société), le santal se limite aux zones les plus sèches, sur des crêtes étroites.

Aux Australes, on retrouve le Santal sur Rapa où il subit un recul rapide (autant de pieds vivants que de pieds morts). A Raivavae, il se trouve sur sol corallien (Motu) ou volcanique. Sur les Motu, il est régulièrement parcouru par le feu et les arbres sont essentiellement des rejets. Enfin, à Tubuai, il resterait quelques pieds en zone rocheuse non envahie par le Goyavier de Chine (*Psidium cattleianum*) (Butaud et Tetuanui, 2003).

B. ANALYSE MOLECULAIRE PAR MICROSATELLITES **CHLOROPLASTIQUES**

1°) Échantillonnage

Des récoltes de feuilles ont été effectuées sur l'ensemble des îles réparties sur les trois archipels constituant l'aire de répartition de *Santalum insulare* : les Marquises, la Société, les Australes. Au total, dix îles ont été échantillonnées, cinq aux Marquises, trois à la Société et deux aux Australes (figure 1). L'échantillonnage a été renforcé depuis les études précédentes réalisées au Cirad-forêt : il passe de 232 (Haudry, 2003) à 500 individus pour l'étude actuelle. Le détail des provenances est récapitulé dans le tableau 1. Deux échantillons de Mitiaro aux îles Cook ont également été introduits dans l'étude.

L'inégalité de l'échantillonnage entre les îles reflète les différences de superficie, ainsi que le degré d'exploitation de l'arbre. De plus, les îles n'ont pas toujours pu être prospectées de manière exhaustive en raison de la difficulté d'accès à certaines d'entre elles. Sur certaines îles des Marquises comme Fatu Hiva et Ua Pou, l'échantillonnage est réduit en raison de la diminution de l'effectif des populations due aux incendies et à la recolonisation

par d'autres espèces (*Casuarina*). Les autres îles de cet archipel ont permis un échantillonnage convenable surtout pour Nuku Hiva qui présente une quantité importante d'individus. Dans l'archipel de la Société, les relevés sont relativement proportionnels à la taille des îles. Aux Australes, les populations de Rapa subissent un recul rapide à cause des chèvres qui abrutissent les santals, l'échantillonnage est donc réduit (Butaud and Tetuanui, 2003).

Dans chaque île des populations ont pu être définies sur des critères géographiques et topographiques. La plupart des individus ont été géoréférencés par GPS.

2°) Extraction d'ADN

L'ADN est extrait à partir de 100 mg de feuilles sèches. Le mode de séchage n'est pas le même pour tous les échantillons. Lors des premières récoltes, le matériel avait été séché dans du papier absorbant tandis que pour les récoltes plus récentes, les feuilles sont placées dans des petites pochettes contenant du silica gel. La qualité des feuilles n'est donc pas la même, ce qui peut avoir des conséquences sur la qualité de l'ADN extrait. Afin d'optimiser l'extraction, les 100 mg sont prélevés sur des feuilles différentes les plus vertes possibles. L'extraction est ensuite réalisée à partir de broyats de feuilles selon une méthode issue d'un protocole établi par les techniciens du laboratoire de génétique à partir de différentes publications (voir annexe 1).

La qualité de l'ADN est vérifiée sur gel d'agarose à 1 %. Les dosages d'ADN ont été effectués par fluorométrie (TKO 100 minifluorometer) afin de pouvoir réaliser des solutions de travail à 5ng/ µl.

3°) Les microsatellites chloroplastiques

a) Présentation

Les marqueurs microsatellites sont des séquences répétées de motifs mono-, di-, tri- ou tétranucléotidiques. Ce sont parmi les marqueurs les plus polymorphes en raison de leur taux élevé de mutations (Echt, 1998). Ils présentent ainsi un polymorphisme de longueur lié à un glissement de la polymérase lors des réplifications ou à des crossing-over inégaux (Jarne et Lagoda, 1996). L'unité de variation est une unité de répétition, ce qui induit une relation

linéaire entre la distance génétique basée sur la différence en taille des allèles et le temps de divergence (Echt, 1998). Ils sont également caractérisés par des séquences flanquantes très conservées permettant de définir des amorces spécifiques. Chez les plantes, les amorces microsatellites chloroplastiques sont dites universelles. D'un point de vue pratique, ceci permet de définir des primers qui pourront être utilisées chez différentes espèces. En réalité, une amorce amplifie chez un nombre plus ou moins limité d'espèces.

b) Utilisation sur le santal

Deux lots d'amorces microsatellites universelles ont été testées sur *Santalum insulare* au cours de cette étude. Le premier lot (36 primers) a été mis au point par Bryan et al (1999) sur les Solanacées (NTCP) et le second (10 primers) a été développé par Weising et Gardner (1999) sur différentes angiospermes dicotylédones (CCMP).

Ces amorces sont testées en tentant une amplification par PCR sur un individu de l'espèce étudiée (conditions PCR, voir annexe 2). Le résultat du test d'amplification est visualisé sur gel d'agarose à 3 %.

Pour les amorces qui révèlent une amplification, une PCR réalisée sur des échantillons d'origines différentes permet de tester le polymorphisme. Le résultat est visualisé sur gel d'acrylamide 6 % révélé au nitrate d'argent (annexe 3).

Les amorces qui révèlent un polymorphisme seront celles retenues pour amplifier l'ensemble des échantillons. La diversité est visualisée sur gel d'acrylamide 6 % en prenant soin d'utiliser des témoins déposés sur chaque gel pour être cohérent dans l'interprétation des tailles des allèles.

4°) Analyse des données

A partir des tailles alléliques déterminées chez les individus pour chaque amorce, chaque chlorotype est défini comme une combinaison de différentes tailles pour les différentes amorces.

En raison du caractère non recombinant du génome chloroplastique les haplotypes d'ADNcp sont traités comme des allèles à un locus unique (Andrianoelina *et al.*, in press).

La diversité génétique dans chaque île et dans les archipels est calculée au moyen d'indices de diversité par le logiciel POPGENE version 1.32, mis au point par F.C. Yeh, R.C. Yang et T. Boyle (<http://www.ualberta.ca/~fveh/index.htm>).

L'indice de diversité génétique de Nei (1973) est calculé selon la formule suivante :

$$H = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 \text{ où } p_i \text{ est la fréquence de l'allèle } i \text{ dans une population.}$$

Le logiciel fourni également le nombre de chlorotypes n_a et le nombre efficace de chlorotypes n_e calculé selon la formule suivante :

$$n_e = 1 / \sum_{i=1}^n p_i^2$$

Un test paramétrique de corrélation selon la méthode de Pearson est effectué avec le logiciel XLstat version 5.0 afin de déterminer les relations éventuelles entre la diversité et la taille des îles ou le nombre d'échantillons dans l'île.

La structure génétique est estimée par une analyse de variance moléculaire, AMOVA (Excoffier et al., 1992) avec Arlequin version 2000 (Schneider et al. 2000). Le pourcentage de variation expliqué par la diversité au sein et entre les populations est estimé en divisant la variance et la probabilité (Pvalue) associée est estimée par une technique de permutation.

Pour illustrer la structure génétique obtenue nous avons construit un arbre avec PHYLIP 6.1 (Felsenstein, 1993) en utilisant la méthode du neighbour-joining. La matrice de distance génétique a été calculée en utilisant la distance de Cavalli-Sforza (Cavalli-Sforza and Edwards, 1967), bien adaptée pour décrire la structuration des populations selon leur histoire évolutive.

$$D^2 = 4 \frac{\sum_m \left[1 - \sum_i p_{1mi}^{1/2} p_{2mi}^{1/2} \right]}{\sum_m (a_m - 1)}$$

où m est l'indice du locus (amorce) ;

i est la somme sur les allèles au $m_i^{\text{ième}}$ locus ;

a_m est le nombre d'allèles au $m_i^{\text{ième}}$ locus ;

p_{1mi} est la fréquence de l'allèle i au locus m dans la population 1.

Tableau 2 : Echantillonnage des feuilles et des graines pour l'analyse des caractères quantitatifs dans chacune des îles

Archipel	Ile	Feuilles (10 feuilles /individu)		Graines (1 à 20 graines/individu)	
		Nombre d'individu par île	Nombre d'individu par archipel	Nombre d'individu par île	Nombre d'individu par archipel
Marquises	Fatu Hiva	0	73	2	71
	Hiva Oa	12		7	
	Nuku Hiva	51		52	
	Tahuata	10		9	
	Ua Pou	0		1	
Société	Moorea	15	76	30	81
	Raiatea	6		4	
	Tahiti	55		47	
Australes	Raivavae	37	46	17	18
	Rapa	9		1	

Le logiciel associe des valeurs de Bootstrap à chaque branche de l'arbre en créant un nouveau jeu de données par un échantillonnage au hasard des caractères pour refaire l'analyse. La variation liée à l'analyse des nouvelles données correspond à la variation qu'on pourrait observer en collectant de nouvelles données.

Le minimum spanning network entre les chlorotypes est établi par Arlequin version 2000 à partir de la matrice de distance basée sur les différences au carré entre les tailles des microsatellites suivant la formule :

$$D_{ij} = \sum_{l=1}^L (a_{il} - a_{jl})^2 \text{ où } a_{il} \text{ et } a_{jl} \text{ est la taille de l'allèle en paire de bases au } l^{\text{ème}} \text{ locus}$$

des individus i et j .

Le test de Mantel a été appliqué en utilisant le logiciel FSTAT version 2.9.3 (Goudet, 2001) afin d'évaluer la corrélation entre la matrice des distances géographiques entre les îles et celle des distances génétiques calculée par Arlequin d'après la formule de Slatkin (1995).

C. ANALYSE DE LA VARIATION DES CARACTERES QUANTITATIFS

1°) Echantillonnage

Des feuilles et des graines ont été récoltées sur l'ensemble des îles, dans les différentes populations. Ces récoltes ont été effectuées au cours de différentes missions réparties sur plusieurs années. Ces échantillons ont été mesurés (longueur et largeur des feuilles, longueur du pétiole et longueur et largeur des graines en millimètre). Pour les graines, l'échantillonnage est très déséquilibré entre les îles à cause des problèmes de prédation par les rats et des difficultés d'accès à certaines populations pour pouvoir dératiser régulièrement. Pour les feuilles, l'échantillonnage est déséquilibré de la même manière que pour celles ramassées pour les extractions d'ADN (tableau 2).

Par ailleurs, à l'emplacement des échantillons récoltés, des paramètres géographiques et climatiques ont été mesurés (coordonnées GPS, altitude, pluviométrie, température). Ces

données ne sont pas disponibles pour l'ensemble des échantillons (manque de données météo) mais l'analyse sera faite à l'échelle des populations (annexe 4).

2°) Analyse des données

a) Paramètres statistiques de base.

Les moyennes et les coefficients de variation ont été calculés pour chaque caractère pour la population totale, pour chaque archipel et pour chaque île. Le coefficient de variation a été calculé pour les îles (CV_{ile}) par le rapport entre la racine carrée de la variance inter-individus au sein de l'île et la moyenne de l'île, pour les archipels par le rapport entre la racine carrée de la variance inter individus au sein de l'archipel et la moyenne de l'archipel, et pour la population totale (CV_{tot}), par le rapport entre la racine carrée inter-individus dans la population totale et la moyenne de la population totale.

b) Estimation des composantes de la variance

Les composantes de la variance ont été estimées en utilisant la procédure SAS VARCOMP et la méthode REML (SAS Institut, 1988) en utilisant trois modèles différents. Le premier modèle évalue les composantes de la variance liées aux variations entre archipels et entre îles. Le second modèle permet de mesurer les variations entre populations au sein des îles. Enfin, le troisième modèle sert à évaluer les variations entre les arbres dans les populations. L'ensemble des modèles permet d'établir un modèle général sous forme d'un modèle aléatoire hiérarchique.

Chacun des modèles peut être exprimé par les formules suivantes :

Modèle 1: effet île dans archipel

$$Y_{aik} = \mu + A_a + I(A)_{ai} + P_{wi}$$

Où Y_{aik} est la mesure k dans l'île i de l'archipel a,

μ est la moyenne totale,

A_a est l'effet aléatoire de l'archipel a, avec une variance de σ_a^2 et une moyenne de 0,

$I(A)_{ai}$ est l'effet aléatoire de l'île i dans l'archipel a, avec une variance de σ_i^2 et une moyenne

de 0, P_{wi} est l'effet aléatoire résiduel avec une variance σ_{wi}^2 et une moyenne de 0.

Modèle 2 : effet population dans île

$$Y_{ipk} = \mu + I_i + P(I)_{ip} + T_{wp}$$

Où Y_{ipk} est la mesure k dans la population p de l'île i ,

μ est la moyenne totale,

I_i est l'effet aléatoire de l'île i , avec une variance de σ^2_i et une moyenne de 0,

$P(I)_{ip}$ est l'effet aléatoire de la population p dans l'île i avec une variance σ^2_p et une moyenne de 0,

T_{wp} est l'effet aléatoire résiduel avec une variance σ^2_{wp} et une moyenne de 0.

Modèle 3 : Effet arbre dans population

$$Y_{ptk} = \mu + P_p + T(P)_{pt} + N_{wt}$$

Où Y_{ptk} est la mesure k sur l'arbre t de la population p ,

μ est la moyenne totale,

P_p est l'effet aléatoire de la population p avec une variance σ^2_p et une moyenne de 0,

$T(P)_{pt}$ est l'effet aléatoire de l'arbre t dans la population p avec une variance σ^2_t et une moyenne de 0,

N_{wt} est l'effet aléatoire résiduel avec une variance σ^2_{wt} et une moyenne de 0.

Le modèle général permet d'obtenir une vision globale de la répartition de la variation. Cependant, compte tenu de la spécificité biologique, les modèles 2 et 3 seront appliqués spécifiquement pour chaque archipel et pour certaines îles et certaines populations lorsque les données le permettent.

A partir des variances calculées par SAS pour chaque modèle, nous pouvons calculer le pourcentage de variance expliqué par chaque composante de la variance par rapport à la variance totale.

En complément de l'ANOVA en modèle aléatoire, nous appliquons également un modèle fixe en utilisant le test de Bonferroni pour savoir si les moyennes des archipels, des îles ou des populations sont significativement différentes.

c) Analyse des relations entre variation des caractères quantitatifs et données climatiques

Ces relations sont étudiées à partir de graphiques (nuage de points) avec en abscisse les altitudes, pluviométries ou températures relevées au niveau des populations et en ordonnées les moyennes des variables (longueur des graines, longueur des pétioles ou longueur des feuilles) sur les populations. La relation est représentée pour chaque variable quantitative et climatique et pour chaque archipel et certaines îles lorsque ceci est nécessaire. La validité des relations est appuyée par des régressions linéaires, simples ou multiples selon les cas, calculées par le logiciel XLstat. La qualité de la modélisation est donnée par un test F sur les paramètres du modèle (H_0 : les paramètres sont nuls) et par la valeur du coefficient de détermination ajusté.

RESULTATS



Tableau 3 : Comparaison des résultats obtenus en faisant l'analyse avec 3 ou 4 amorces.

	île	Echantil- lonnage	chlorotypes avec 3 amorces				chlorotypes avec 4 amorces			
		nb d'individus	nb d'indiv amplifiés	nb de chlorotypes différents /île	nb de chlorotypes différents /archipel	nb de chloro total	nb d'indiv amplifiés	nb de chlorotypes différents /île	nb de chlorotypes différents /archipel	nb de chloro total
Marquises	Fatu Hiva	4	3	2	10	14	1	1	10	17
	Hiva Oa	46	42	3			37	3		
	NukuHiva	134	84	5			55	5		
	Tahuata	29	25	5			23	5		
	Ua Pou	9	8	1			7	1		
Société	Moorea	87	83	3	6		78	3	6	
	Raiatea	27	20	2			15	3		
	Tahiti	98	78	5			68	5		
Australes	Raivavae	50	48	2	3		48	2	3	
	Rapa	14	14	1			14	1		

Tableau 4 : caractéristiques des allèles en paire de bases pour 3 (Ccnp 3, Ccnp 5, Ntcp 39) et 4 amorces (Ccnp 3, Ccnp 5, Ntcp 39, Ntcp 9) et fréquence de chaque chlorotype dans la population totale.

Ccnp3	Ccnp5	Ntcp39	Ntcp9	chlorotype 3 amorces	(fréq.)	chlorotype 4 amorces	(fréq.)
109	111	153	294	ACL 3	-	A	0.014
109	111	153	295	ACL 3	0.26	C	0.15
109	111	153	292	ACL 3	-	L	0.1
109	110	153	295	DN 3	0.05	D	0.014
109	110	153	293	DN 3	-	N	0.04
109	112	150	292	E 3	0.34	E	0.35
109	112	149	292	F 3	0.0075	F	0.008
109	112	151	292	G 3	0.09	G	0.09
109	112	153	294	H 3	0.022	H	0.014
110	111	153	294	KI 3	0.167	I	0.13
110	111	153	292	KI 3	-	K	0.006
109	113	153	294	J 3	0.0025	J	0.003
109	111	152	292	MQ 3	0.037	M	0.038
109	111	152	295	MQ 3	-	Q	0.006
109	111	150	292	O 3	0.01	O	0.012
109	111	147	295	P 3	0.0025	P	0.003
109	111	151	295	R 3	0.012	R	0.014
109	113	151	.	T 3	0.0025	.	.
110	112	153	.	S 3	0.0025	.	.

III- RESULTATS

A. MICROSATELLITES CHLOROPLASTIQUES

1°) Diversité des chlorotypes

Parmi toutes les amorces testées, cinq ont permis une amplification révélant du polymorphisme chez *Santalum insulare* : Ccmp3, Ccmp5, Ntcp8, Ntcp9 et Ntcp39. La Ntcp8 n'a pas été utilisée dans l'analyse car elle ne permettait pas d'amplification pour un grand nombre d'échantillons. Les quatre autres amorces passées sur les 500 individus échantillonnés ont donné des nombres variables d'allèles : Ccmp3, 2 allèles, Ccmp5, 4 allèles, Ntcp9, 5 allèles, Ntcp39, 7 allèles. Durant l'étude, l'amorce Ntcp9 s'est révélée ne pas amplifier sur un certain nombre d'individus pouvant diminuer considérablement l'effectif de certaines populations (notamment Nuku Hiva, cf tableau 3). Cependant, cette amorce pouvant nous permettre de définir un plus grand nombre de chlorotypes et d'affiner notre étude, nous avons décidé de la conserver et de faire l'analyse avec et sans elle pour évaluer ce qu'elle apportait. L'analyse combinant trois locus (Ccmp3, Ccmp5 et Ntcp39) et 12 allèles a donné 14 chlorotypes. Celle combinant quatre locus et 17 allèles a donné 17 chlorotypes (tableau 4). Cependant, en comparant les résultats pour ces deux analyses, il s'avère que l'analyse à quatre locus offre une plus grande diversité de chlorotypes au niveau global, bien que le nombre de chlorotypes au sein de chaque île reste le même que dans l'analyse avec trois amorces (tableau 3). Cette analyse permet néanmoins de différencier des chlorotypes entre l'archipel des Marquises et celui des Australes qui apparaissaient identiques avec l'analyse à trois locus.

L'analyse avec trois amorces sera donc utilisée uniquement pour faire les analyses intra-île afin d'éviter de diminuer de manière trop importante l'échantillonnage. En effet, à cette échelle, l'analyse avec quatre amorces n'apporte pas d'information supplémentaire. Pour l'analyse phylogénique et l'étude de la structuration de la diversité entre les îles, nous utiliserons l'analyse avec quatre amorces afin d'être plus précis.

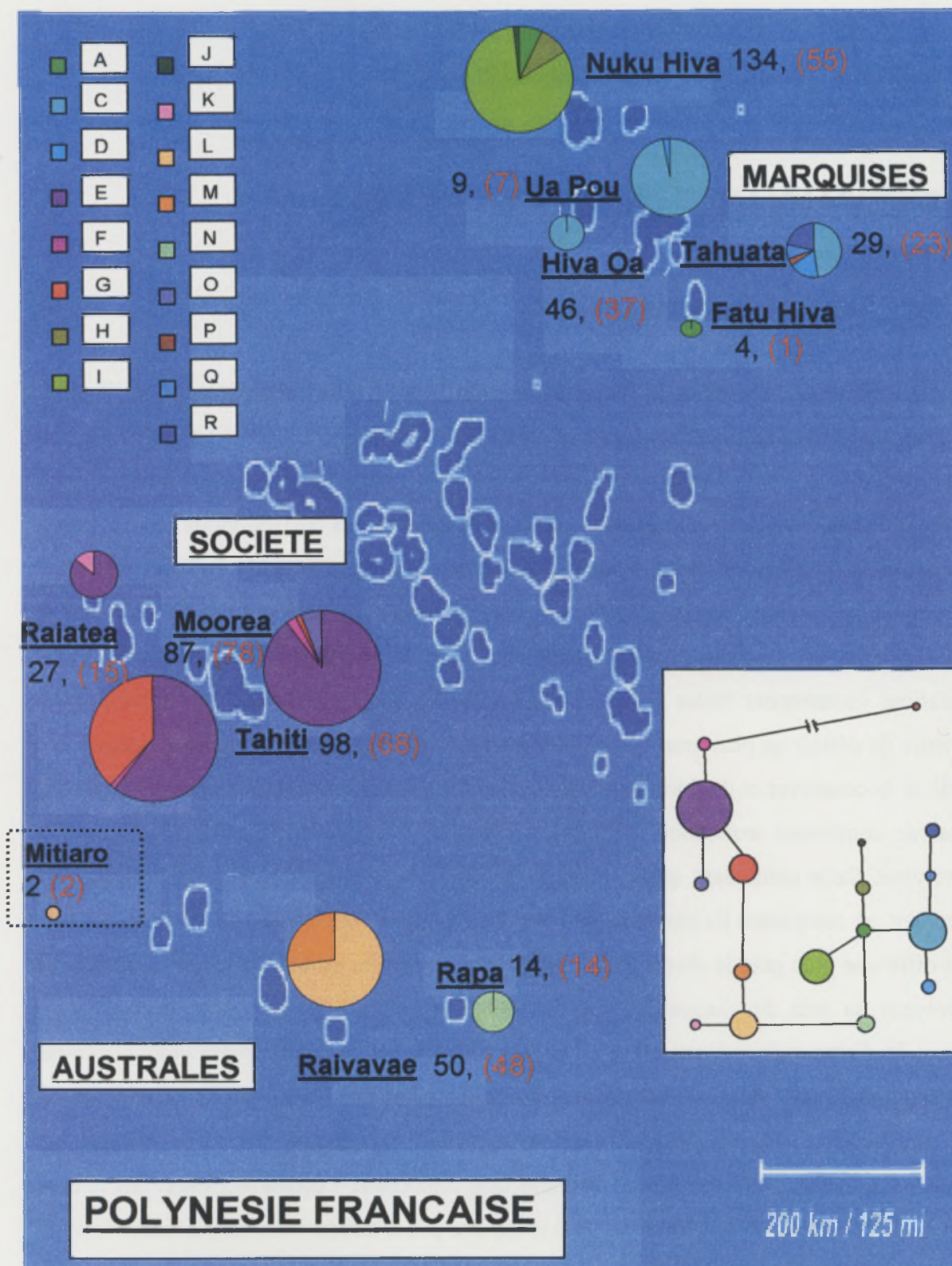


Figure 2 : Nombre d'individus analysés sur chaque île (échantillonnage (individus amplifiés), répartition et fréquence des chlorotypes dans chaque île et minimum spanning network entre les chlorotypes.

Tableau 5 : Paramètres de diversité évalués avec les microsattellites chloroplastiques pour les îles et les 3 archipels de l'aire de répartition de *Santalum insulare*. Taille de la population (N), nombre de chlorotypes (na), nombre efficace de chlorotype (ne), diversité génétique (He)

Archipel	île	Superficie (km ²)	N	na	ne	He
Marquises	Fatu Hiva	84	1	1	1	0
	Hiva Oa	315	37	3	1.1	0.1
	Nuku Hiva	340	56	4	1.45	0.31
	Tahuata	69	23	5	3.17	0.68
	Ua Pou	105	7	1	1	0
	Total		124	9	3.02	0.67
Australes	Raivavae	17	48	2	1.65	0.39
	Rapa	40	14	1	1	0
	Total		62	3	2.42	0.59
Société	Moorea	125	78	3	1.96	0.49
	Raiatea	171	14	2	1.32	0.25
	Tahiti	1045	65	4	1.21	0.17
	Total		157	5	1.66	0.4
Iles Cook	Mitiaro	23	2	1	1	0
Total			343	18	5.47	0.82

Tableau 5_a : résultats du test de corrélation entre la diversité et la taille des îles ou le nombre d'individus dans les îles

	Valeur corrélation	Pvalue
Corrélation entre taille île et diversité (He)	- 0.2	0.30
Corrélation entre nombre d'individus et diversité (He)	0.37	0.16

Tableau 6 : Composantes de la variance mesurée à partir de l'analyse à 4 amorces

source de variation	df	somme des carrés	composants de la variance	pourcentage de variation
inter archipels	2	1173.17	5.24 Va	86.44
inter îles intra archipels	7	92.98	0.46 Vb	7.65
intra îles	334	119.832	0.36 Vc	5.91
total	343	1385	6.07	

Figure 3 : Arbre phylogénique établi par la méthode du neihgbour-joining et valeurs des bootstraps pour 1000 tirages.

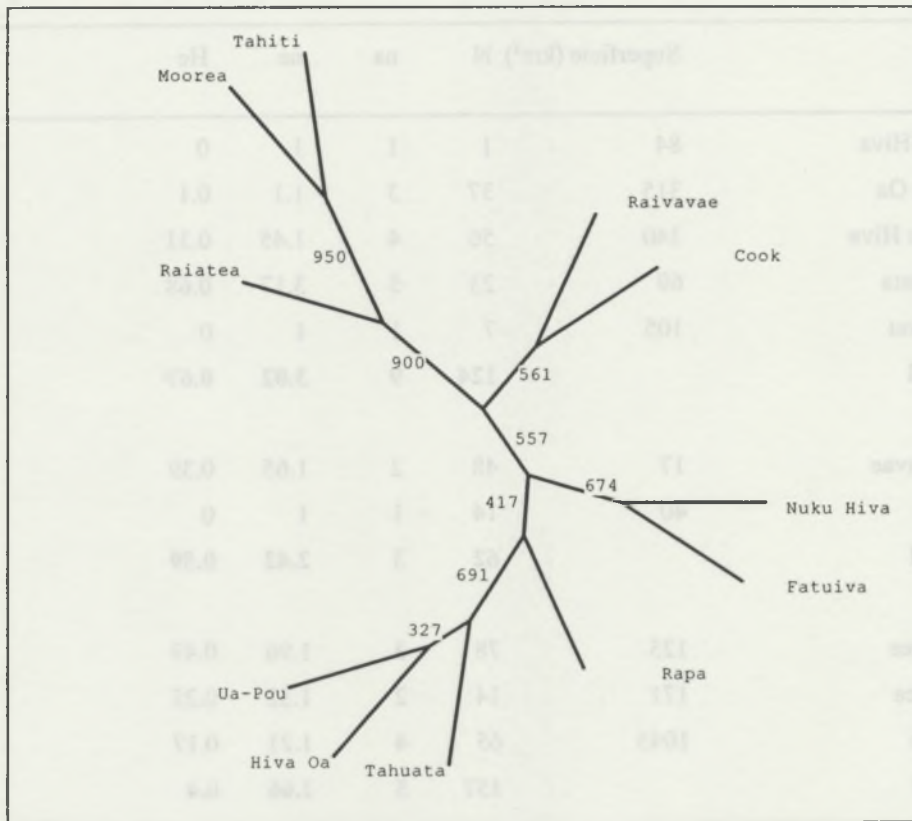
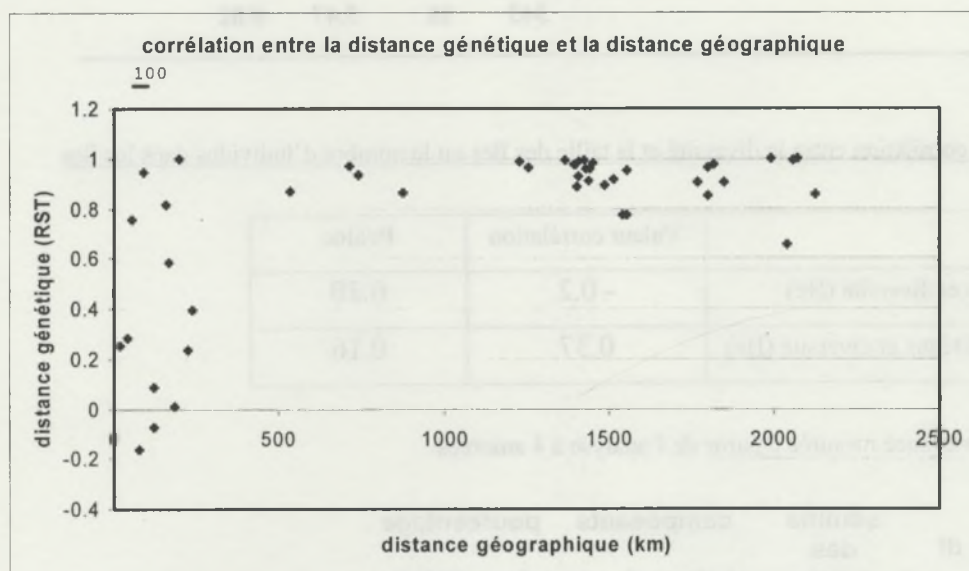


Figure 4 :



2°) Diversité inter-île inter-archipel

L'analyse à 4 amorces révèle donc 4 chlorotypes majoritaires. Le chlorotype E caractérisant la Société est majoritaire (35 %) suivi des chlorotypes C et I caractérisant les Marquises (respectivement 15 % et 14 %) et du chlorotype L propre à Raivavae dans les Australes (10 %) (Tableau 4 et figure 2).

De manière générale toutes les îles présentent plusieurs chlorotypes dont un dominant (figure 2).

A l'échelle des archipels, les Marquises présentent le plus de diversité ($H_e=0.67$) suivies des Australes ($H_e=0.59$) et de la Société ($H_e=0.40$) (tableau 5). L'effectif efficace (n_e) suit le même modèle.

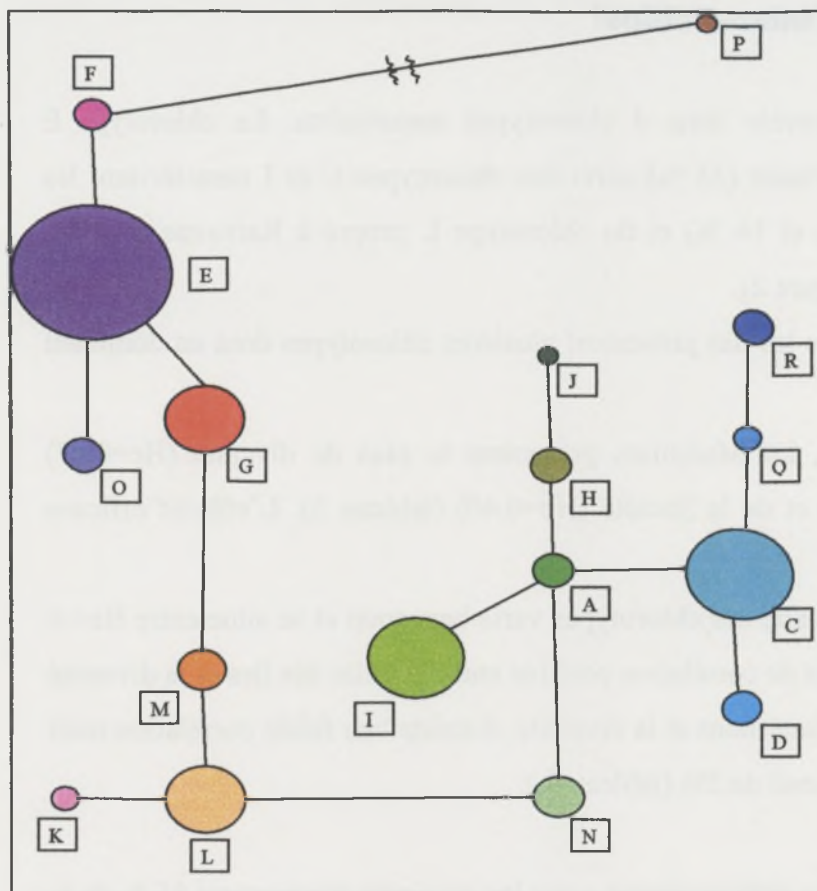
A l'échelle des îles la diversité des chlorotypes varie beaucoup et se situe entre $H_e=0$ à $H_e=0.68$ (tableau 5). Il n'y a pas de corrélation positive entre la taille des îles et la diversité (tableau 5_a). Entre le nombre d'échantillons et la diversité, il existe une faible corrélation mais celle-ci n'est pas significative au seuil de 5% (tableau 5_a).

L'AMOVA révèle une forte différenciation entre les archipels représentant 86 % de la variation totale ; la variation inter-îles intra-archipel représente 7.6 % et la variation intra-île 5.9 % (tableau 6).

L'arbre établi par la méthode du neighbour-joining fait ressortir trois principaux groupes dont deux correspondent plus ou moins aux Marquises et aux îles de la Société (figure 3). En ce qui concerne les îles des Australes, Rapa se situe au sein du groupe des Marquises et Raivavae forme un groupe à part avec les individus des îles Cook. Le groupe « Marquises » plus Rapa se divise en trois : l'un est constitué de Nuku-Hiva et Fatu Hiva, le second de Rapa et le dernier de Ua Pou, Hiva Oa et Tahuata. Les valeurs de bootstraps associées aux branches sont très élevées pour les trois îles de la Société et significatifs pour les autres groupes cités.

La relation entre les distances génétiques et géographiques souligne que la distance génétique maximum (1) est atteinte à partir de 500 km (figure 4). Le coefficient de corrélation est de 0.6 avec une probabilité associée de 0,02.

Figure 5 : « Minimum spanning network » entre les chlorotypes



3°) Relation phylogénique et distribution géographique des haplotypes (à partir de l'analyse à 4 amorces)

Le réseau montre 3 groupes d'haplotypes dont 2 sont situés en bout de « chaîne » et un en position centrale (figure 5). Chaque groupe présente en général un haplotype central très connecté avec les autres qui correspond au chlorotype le plus fréquent dans le groupe. Chacun des 2 groupes extrêmes est relié au groupe central par des connexions de longueur 2 (entre A et N et entre M et G) tandis qu'au sein des groupes, sauf 2 exceptions (connexion N-L et F-P), les connexions sont en général de longueur 1. De manière générale, les chlorotypes qui sont très liés au niveau du réseau sont géographiquement liés (figure 2). Ainsi les 3 groupes représentent plus ou moins les 3 archipels (Marquises à droite, Australes au centre et Société à gauche). Chaque archipel présente des chlorotypes qui lui sont propres par rapport aux autres et un ou deux chlorotypes dominants. Les chlorotypes de l'archipel des Australes sont intermédiaires entre ceux de la Société et des Marquises. Les chlorotypes de Mitiaro aux îles Cook sont les mêmes que ceux observés sur l'île principale de Raivavae. Aux Marquises, Nuku-Hiva présente des chlorotypes différents des autres îles. A la Société, le chlorotype majoritaire (E) est également majoritaire dans chacune des îles.

4°) Diversité intra-île (analyse avec 3 amorces)

La répartition des chlorotypes entre les populations au sein de chaque île a été représentée sur des cartes par des diagrammes (annexe 5). Elle varie suivant les îles.

Dans les îles les plus petites, à Rapa et Ua Pou, on observe un seul chlorotype dans des populations relativement éloignées. A Fatu Hiva, par contre, malgré un échantillonnage réduit, on observe deux chlorotypes différents (cartes Fatu Hiva, Rapa et Ua Pou Annexe 5).

A Raivavae et Raiatea deux chlorotypes ont été définis (carte Raivavae et Raiatea, Annexe 5).

A Tahuata, île la plus diversifiée, on observe cinq chlorotypes. La Population de Vaitahu, présente deux chlorotypes bien qu'elle soit probablement composée de beaucoup de clones (carte Tahuata, Annexe 5)

Tableau 7 : paramètres de diversité évalués pour chaque population de Nuku Hiva

Population	N	na	ne	He
Vaiteheii	7	1	1	0
Motuhee	8	1	1	0
Mauu	18	1	1	0
Haut TD	21	3	1.47	0.32
Crête Toovii	12	4	2.48	0.60
Toovii	11	4	3.1	0.68
Vaipupui	1	1	1	0
Tahioae-Vaioa	4	2	2	0.5

Tableau 8 : Caractéristiques morphologiques générales de *Santalum insulare*

Variable	Unité	Min	max	Moy	Coef de var. (CV _{tot} %)
Graine :					
Longueur	(mm)	9	34	21.28	15.83
Largeur	(mm)	7	31	18.42	23.72
Feuille :					
Longueur pétiole	(mm)	3	21	9.28	35.23
Longueur limbe	(mm)	36	152	82.63	22.05
Largeur limbe	(mm)	13	95	44.35	23.86

Tableau 9 : Caractéristiques morphologiques des graines par île et archipel.

Archipel	île	Fréquence des Observations	Long graine		Larg graine	
			moy (mm)	CV	moy (mm)	CV
Marquises	Fatu Hiva	8	14.4	9.1	13.5	10.5
	Hiva Oa	52	18.6	10.8	16.2	14.4
	Nuku Hiva	682	24.7	12.7	24	13.1
	Tahuata	221	21.9	8.4	20.7	9.9
	Ua Pou	1	20	-	19	-
	Total	964	23.7	14.4	22.7	16.1
Société	Moorea	695	20	8	16.4	7.1
	Raiatea	59	17.4	6	14.8	8.1
	Tahiti	536	20.3	11.9	14.7	12.1
	Total	1287	20	10.2	15.6	10.7
Australes	Raivavae	165	17.1	10.6	15.5	11.1
	Rapa	1	26	-	18	-
	Total	166	17.2	11.3	15.5	11.1

A Hiva Oa, on observe un chlorotype majoritaire présent dans les trois populations bien qu'elles soient isolées depuis longtemps (carte Hiva Oa, Annexe 5).

A Nuku Hiva, l'île présentant le plus grand nombre de santals, cinq chlorotypes ont pu être mis en évidence. Les populations de Basse terre déserte (Motuhee, Vaiteheii et Maauu) sont monomorphes pour le chlorotype KI 3 majoritaire. Nous observons ensuite une diminution progressive de ce chlorotype vers les populations situées plus à l'est (carte Nuku Hiva, Annexe 5). Il est remplacé par d'autres chlorotypes qui confèrent aux populations de Haut Terre déserte, Toovii et crête Toovii une diversité croissante (tableau 7).

A Tahiti, les populations sont regroupées dans la zone Nord Ouest, la plus sèche de l'île. Il existe probablement des populations sur la presqu'île mais elles n'ont pas pu être localisées. Les crêtes ont été signalées afin de visualiser les voies d'échanges préférentiels entre les populations (carte Tahiti, Annexe 5).

Sur Moorea, trois populations assez éloignées ont été identifiées. Le chlorotype E3 (caractéristique des îles de la Société) reste majoritaire et présent dans chacune des populations. Au Rotui, il existe également un autre chlorotype bien représenté, nous pouvons visualiser la répartition des deux chlorotypes au sein de la population sur une carte détaillée du Rotui (carte Rotui, Annexe 5).

B. CARACTERES QUANTITATIFS

1°) Caractéristiques morphologiques de *Santalum insulare*

Les caractéristiques pour toutes les variables sont figurées dans le tableau 8 pour l'espèce et dans les tableaux 9 et 10 pour chaque archipel et chaque île.

La taille des graines, des feuilles et des pétioles varie selon les îles et selon les archipels (tableaux 8, 9 et 10). De manière générale, toutes les variables présentent des valeurs plus élevées aux Marquises. Les coefficients de variation à l'échelle de l'espèce sont comparables pour les variables largeur des graines, longueur et largeur des feuilles. Ils sont plus élevés pour la longueur des pétioles et plus faible pour la longueur des graines. A

Tableau 10 : Caractéristiques morphologiques des feuilles par île et archipel.

Archipel	Île	fréq. Observ	Long pétiole		Long feuille		Larg feuille	
			Moy (mm)	CV	moy (mm)	CV	moy (mm)	CV
Marquises	Hiva Oa	120	8.5	30.2	98.4	14.8	49.6	13.6
	Nuku Hiva	649	11.8	31.5	91.5	16.8	49.6	20.3
	Tahuata	99	10.4	17.8	94.3	22.4	49.9	15.4
	Total	868	11.2	32.2	92.8	17.5	49.6	18.9
Société	Moorea	169	7.8	20.2	77.9	18.4	40.4	23.1
	Raiatea	22	8.9	21.7	63.5	13.6	31.9	27.6
	Tahiti	470	7.6	26.8	71.9	23.3	40.1	26.0
	Total	661	7.7	25.2	73.1	22.2	39.9	25.6
Australes	Raivavae	368	7.8	23.7	77.1	18.2	40.7	20.3
	Rapa	30	7.4	17.9	71.1	9.8	35.2	15.9
	Total	398	7.7	23.4	76.7	17.9	40.3	20.4

Tableau 11 : Composantes de la variance (valeur absolue (**valeur relative**)) pour chaque variable relative aux graines sur l'ensemble des données (modèle 1)

Variables	Composantes de la variance				
	Inter archipels	Inter îles dans archipel	Inter pop dans île	Inter arbres dans pop	Intra arbre
Longueur des graines	0* (0 %)	10.34*** (40 %)	12.56*** (48 %)	1.25*** (5 %)	1.94 (7 %)
Largeur des graines	1.03*** (4 %)	9.82*** (41 %)	10.62*** (45 %)	0.42*** (2 %)	1.80 (8 %)

Tableau 12 : Composantes de la variance (valeur absolue (**valeur relative**)) pour les caractères relatifs aux graines entre les îles et les populations pour chaque archipel (modèle 2)

Archipel	composantes de la variance pour la variable « longueur des graines »			composantes de la variance pour la variable « largeur des graines »		
	Inter île	Inter pop	Intra pop	Inter île	Inter pop	Intra pop
Marquises	11.02 *** (42 %)	11.98*** (46 %)	3.01 (12 %)	8.85*** (35 %)	13.53*** (54 %)	2.74 (11 %)
Société	0.68*** (3 %)	19.75*** (86 %)	2.49 (11 %)	5.09*** (28 %)	11.34*** (64 %)	1.40 (8 %)
Australes	28.85*** (85 %)	2.83*** (9 %)	2.11 (6 %)	0*** (0 %)	2.72 ° (58 %)	1.95 (42 %)

Tableau 13 : Composantes de la variance (valeur absolue (**valeur relative**)) pour les caractères relatifs aux graines au sein de certaines îles (modèle 2).

île	composantes de la variance pour la variable « longueur des graines »		composantes de la variance pour la variable « largeur des graines »	
	inter pop	intra pop	inter pop	intra pop
Moorea (2 pop)	2.9** (39 %)	4.5 (61 %)	0.6* (19 %)	2.5 (81 %)
Nuku Hiva (6 pop)	13.4*** (72 %)	5.3 (28 %)	14.8*** (80 %)	3.8 (20 %)
Raivavae (3 pop)	3.2*** (52 %)	2.9 (48 %)	2.3*** (48 %)	2.5 (52 %)
Tahiti (4 pop)	34.3*** (93 %)	2.5 (7 %)	17.8*** (92 %)	1.5 (8 %)

*** variable significative à 1 % ; ** variable significative à 5 % ; * variable significative à 10 % ; ° variable non significative

Tableau 14 : Composantes de la variance (valeur absolue (**valeur relative**)) pour les caractères relatifs aux graines au sein de certaines populations de certaines îles (modèle 3)

île	population	Composantes de la variance pour la variable « longueur des graines »		Composantes de la variance pour la variable « largeur des graines »	
		Inter arbre	Intra arbre	Inter arbre	Intra arbre
Nuku Hiva	Crête Toovii	3.7*** (58 %)	2.6 (42 %)	1.3*** (29 %)	3.3 (71 %)
Tahiti	Pic Vert	0.4*** (17 %)	2.1 (83 %)	0.1*** (9 %)	1.4 (91 %)
Moorea	Rotui	1.9*** (43 %)	2.5 (57 %)	0.6** (22 %)	2 (78 %)

Tableau 15 : Composantes de la variance (valeur absolue (valeur relative)) pour chaque variable relative aux feuilles sur l'ensemble des données (modèle 1)

Variables	Composantes de la variance				
	Inter archipels	Inter îles dans archipel	Inter pop dans île	Inter arbres dans pop	Intra arbre
Longueur du pétiole	1.48*** (14 %)	1.28*** (12 %)	3.64*** (35 %)	2.33*** (23 %)	1.62 (16 %)
Longueur des feuilles	146.19*** (30 %)	20.89*** (4 %)	186.13*** (38 %)	73.89*** (15 %)	64.72 (13 %)
Largeur des feuilles	41.32*** (26 %)	8.06*** (5 %)	41.88*** (26 %)	41.69*** (26 %)	27.02 (17 %)

Tableau 16 : Composantes de la variance (valeur absolue (valeur relative)) pour les caractères relatifs aux feuilles entre les îles et les populations pour chaque archipel (modèle 2)

Archipel	Composantes de la variance pour la variable « longueur du pétiole »			Composantes de la variance pour la variable « longueur de la feuille »			Composantes de la variance pour la variable « largeur de la feuille »		
	Inter île	Inter pop	Intra pop	Inter île	Inter pop	Intra pop	Inter île	Inter pop	Intra pop
Marquises	0.44 (3 %)	7.37 (59 %)	4.82 (38 %)	0 (0 %)	173.67 (55 %)	140.27 (45 %)	0 (0 %)	21.62 (25 %)	65.87 (75 %)
Société	0 (0 %)	2.33 (51 %)	2.25 (49 %)	0 (0 %)	201.72 (67 %)	101.19 (33 %)	0 (0 %)	64.30 (53 %)	57.16 (47 %)
Australes	0 (0 %)	0.3 (9 %)	2.89 (91 %)	20.36 (11 %)	30.11 (16 %)	141.21 (74 %)	20.81 (24 %)	6.94 (8 %)	58.41 (68 %)

Tableau 17 : Composantes de la variance (valeur absolue (valeur relative)) pour les caractères relatifs aux feuilles entre les populations et entre les arbres pour certaines îles (modèle 3)

Île	Composantes de la variance pour la variable « longueur du pétiole »			Composantes de la variance pour la variable « longueur de la feuille »			Composantes de la variance pour la variable « largeur de la feuille »		
	Inter pop	Inter arbre	Intra arbre	Inter pop	Inter arbre	Intra arbre	Inter pop	Inter arbre	Intra arbre
Tahiti	1.08 (25%)	2.23 (50 %)	1.11 (25 %)	256.6 (76%)	45.69 (14 %)	33.73 (10 %)	67.19 (54%)	38.64 (31 %)	18.37 (15 %)
Nuku Hiva	8.16 (56%)	4 (27 %)	2.46 (17 %)	111.74 (42%)	78.97 (29 %)	77.53 (29 %)	24.82 (23%)	47.54 (45 %)	33.5 (32 %)
Raivavae	0.69 (20%)	1.68 (49%)	1.05 (31 %)	34.67 (19%)	100.89 (54 %)	50.21 (27 %)	0 (0 %)	51.88 (73 %)	18.74 (27 %)

l'échelle des archipels et des îles, ils sont très variables et pas forcément corrélés à la taille de l'échantillonnage. Nous pouvons noter des coefficients de variation particulièrement élevés à Nuku Hiva et Tahiti.

2°) Structuration de la diversité

a) Taille des graines

La variance est surtout expliquée par la variation inter-îles et inter-populations (tableau 11). La variance inter-archipel est nulle. Les analyses réalisées sur chacun des archipels (modèle 2, tableau 12), sur certaines îles (modèle 2, sans composante inter-île, tableau 13) et dans certaines populations (modèle 3, tableau 14), soulignent le fait que la distribution de la variation est très différente d'un archipel à l'autre, d'une île à l'autre et d'une population à l'autre.

b) Taille des feuilles

Pour les caractères relatifs aux feuilles, la variation est répartie en part environ égale pour chaque composante (tableau 15). Pour la longueur et la largeur des feuilles, la variance inter-île est très faible. La plus grande part de variation se retrouve entre les archipels et entre les populations au sein des îles. De la même manière que pour les graines, l'analyse par archipel (modèle 2, tableau 16), et pour certaines îles (modèle 3, tableau 17) nous indique que la distribution de la variance peut fortement varier d'un archipel ou d'une île à l'autre.

3°) Corrélation entre caractères quantitatifs et données climatiques

La figure F1 (annexe 6) illustre la corrélation positive qui existe entre l'altitude et la pluviométrie. La variation de la pluviométrie est expliquée à 80 % par l'altitude (tableau 18, annexe 6). Par conséquent, les relations seront illustrées par la relation entre l'altitude et les variables étudiées car les mesures sont plus fiables pour l'altitude que pour la pluviométrie.

Figure G1

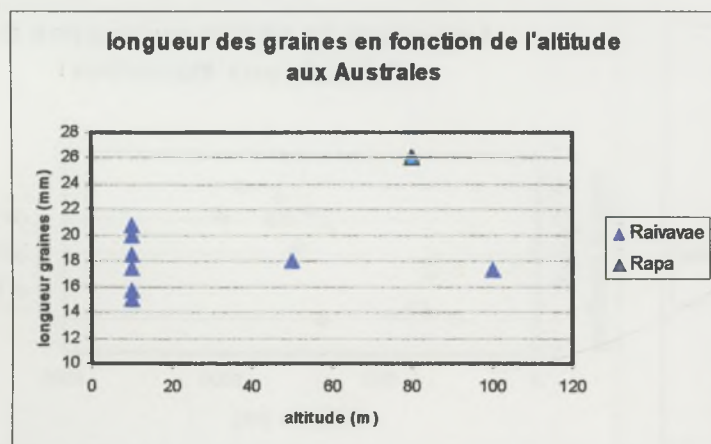


Figure G2

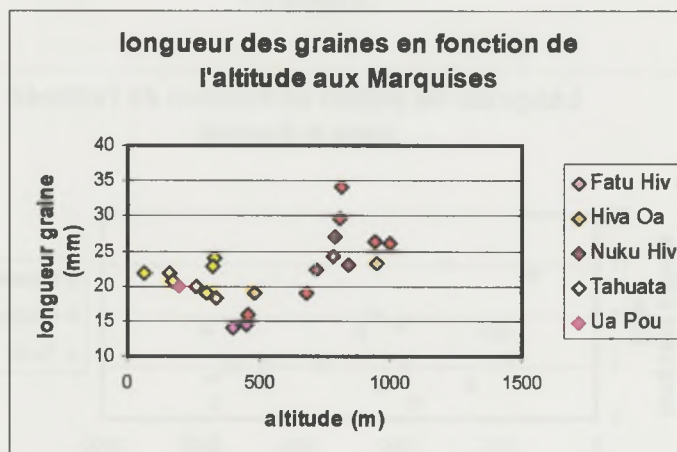


Figure G3

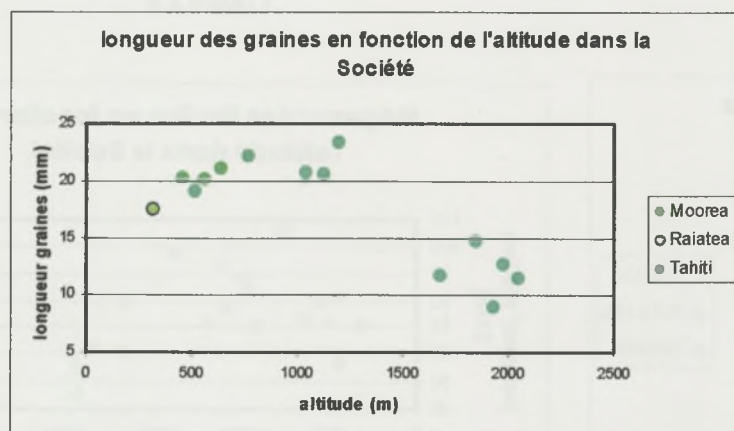


Figure F2

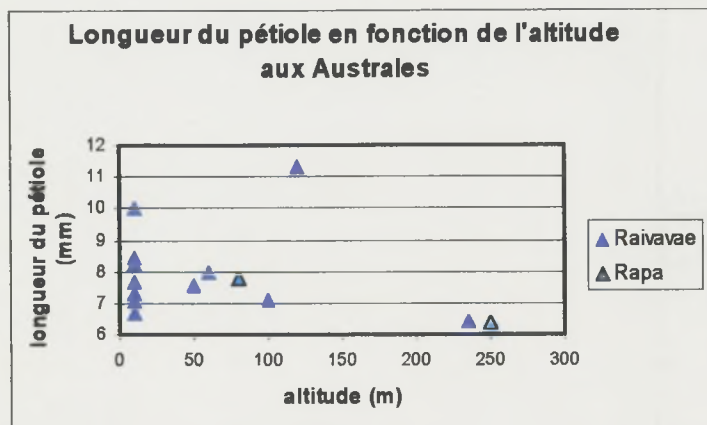


Figure F3

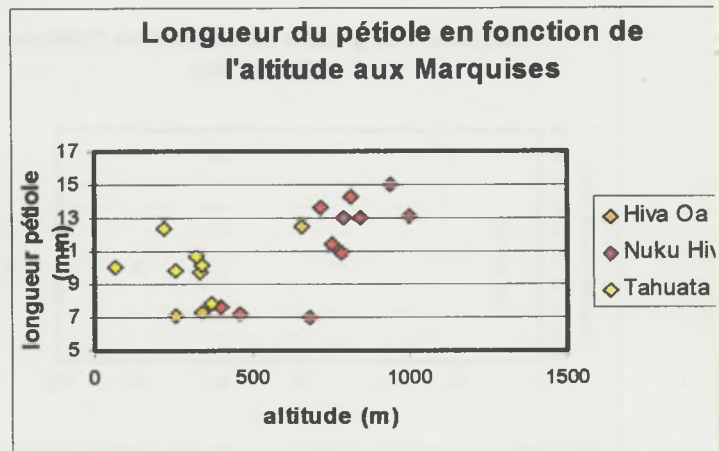


Figure F4

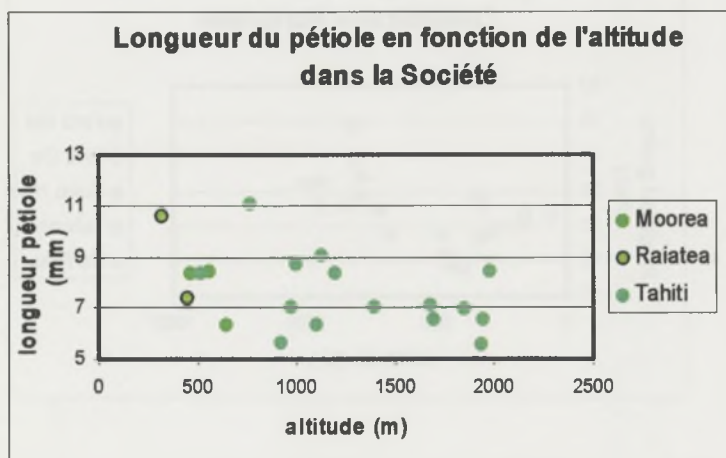


Figure F6

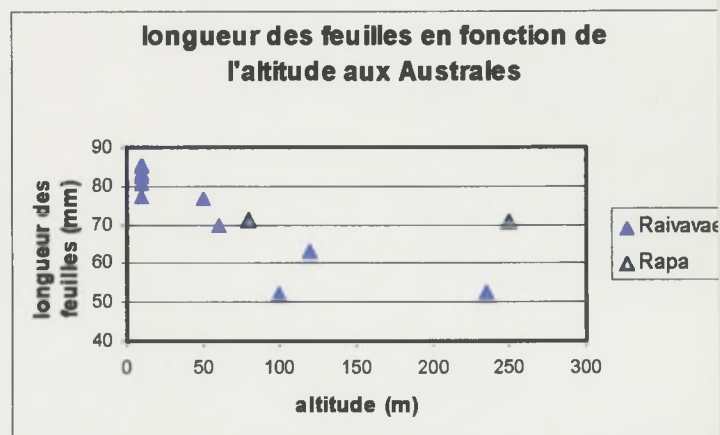


Figure F7

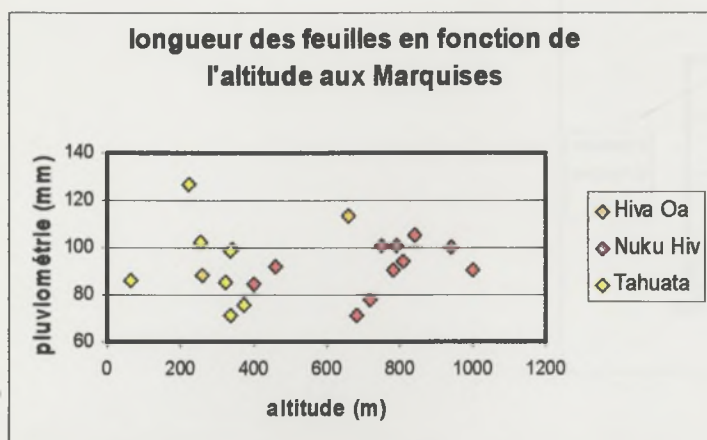
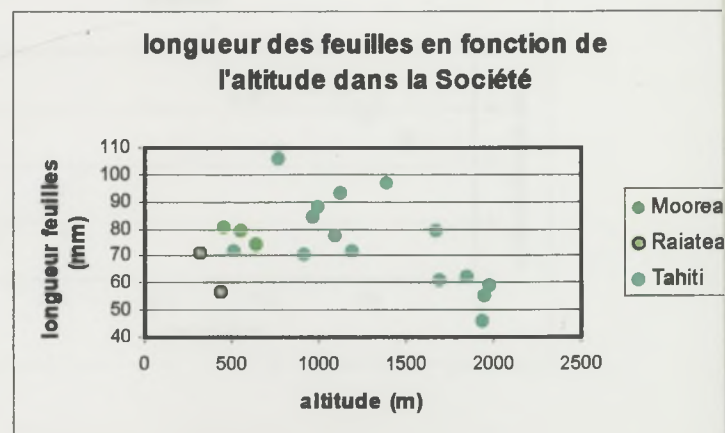


Figure F8



a) Graines

La relation entre la longueur des graines et l'altitude est illustrée figures G1 à G4. Les régressions linéaires associées à ces corrélations sont présentées tableau 19 (annexe 6).

Aux Australes, compte tenu de la faiblesse de l'échantillonnage, il est difficile de mettre en évidence une quelconque corrélation (figure G1). Aux Marquises, on observe une corrélation positive et linéaire entre la longueur des graines et l'altitude (figure G2). Dans la Société (figure G3), la relation est positive jusqu'à 1000 mètres puis négative au delà de cette altitude (échantillons de Tahiti). Ce phénomène est modélisé dans l'analyse de régression linéaire par une parabole. La température peut être un facteur explicatif car il existe une relation entre celle-ci et la taille des graines (tableau 18, annexe 6)

b) Feuilles (figures F2 à F7 ; tableau 18, annexe 6)

Tout comme pour les graines, la corrélation entre l'altitude et la longueur des pétioles est difficile à mettre en évidence aux Australes (figure F1). Une corrélation positive est mise en évidence uniquement aux Marquises avec une probabilité d'erreur de 5 % (figure F3). Aux Australes, l'analyse de régression linéaire met en évidence une corrélation négative entre l'altitude et la longueur des feuilles (figure F5). Dans la Société, nous observons sur la figure F6 le même phénomène que pour les graines. L'analyse de régression linéaire multiple indique que la relation est significativement différente de 0.

DISCUSSION





DISCUSSION

Tableau 20 : Diversité mesurée par l'étude des microsatellites chloroplastiques chez différentes espèces

espèce	N	Nb d'amorces	Nb de chlorotypes	H	référence
Santalum insulare	355	4	17	0.82	
Dalbergia monticola	100	3	13	0.88	Andrianoelina <i>et al</i> in press
Corylus avellana	248	3	7	0.42	Palmé & Vendramin 2002

A. DIVERSITE, STRUCTURATION ET FLUX DE GENES CHEZ LE SANTAL

1°) Diversité

Peu d'études de diversité mesurée par microsatellites chloroplastiques sont disponibles sur les arbres tropicaux angiospermes, particulièrement sur les espèces insulaires. Cette étude apporte donc de nouveaux éléments pour l'étude des systèmes insulaires. De manière générale, les études génétiques indiquent que les populations insulaires présentent une diversité génétique inférieure à celle des populations continentales (Barett, 1998). Cependant, dans le cas de *Santalum insulare* nous ne mettons pas en évidence ce type de résultats car la diversité globale (nombre de chlorotypes et indice de diversité de Nei) est comparable à celle d'autres espèces forestières de milieu continental (*Corylus avellana*) ou de grandes îles (*Dalbergia monticola*) (tableau 20). Ceci étant, les comparaisons sont délicates car le nombre d'amorces, la taille de l'échantillonnage, la taille et la structure de l'aire de répartition sont différents suivant les études.

Au niveau de chaque archipel, la valeur des indices de diversité est variable. Aux Marquises, le nombre de chlorotypes et l'indice de diversité de Nei sont les plus élevés ($n_a=9$; $H=0.67$). Dans la Société, malgré un échantillonnage plus élevé que celui des Marquises (respectivement 157 et 124 individus ayant amplifié), la diversité est beaucoup plus faible ($n_a=5$, $H=0.4$). Cet écart peut être lié à l'âge des îles. En effet, les îles de la Société sont les plus jeunes des trois archipels (tableau 21). L'archipel des Australes ($n_a=3$; $H_e=0.59$) est le plus vieux mais, compte tenu de la taille des îles, les potentialités d'expansion sont limitées. De plus à cause de la surexploitation et des dégâts causés par les caprins, le nombre et la taille des populations sont réduits.

La diversité dans chaque île n'est pas corrélée positivement à leur taille ($R=-0.2$; $P=0.3$). Intuitivement, nous aurions pu imaginer qu'une plus grande superficie permettait une meilleure expansion et donc une potentialité supérieure d'expression de la diversité. Mais il faut également prendre en compte la composante habitat. En effet, les habitats disponibles et favorables au santal ne sont pas nécessairement fonction de la taille de l'île. Par ailleurs, les facteurs anthropiques ont modifié la répartition et la structure des populations. La diversité

n'est pas non plus significativement corrélée au nombre d'individus échantillonnés ($R=0.37$; $P=0.16$). La surexploitation et l'échantillonnage non exhaustif peuvent aussi être la cause de ce phénomène. De plus, dans certaines îles, l'importance de l'échantillonnage peut se traduire par le relevé de plusieurs échantillons d'un même clone, ce qui réduira la diversité.

2°) Structuration inter-archipels

La structure géographique des différents archipels se traduit par une forte différenciation inter-archipel (86 % de la variance totale). Les arbres forestiers angiospermes présentent souvent une forte structuration entre régions (Raspé et al., 2000) à cause de l'hérédité maternelle des chloroplastes et de la faible dispersion des graines comparé au pollen (Echt et al., 1998). Dans le cas de *Santalum insulare*, ce phénomène est accentué par son aire de répartition en milieu insulaire. Compte tenu de la distance qui sépare les archipels (au moins 500 km, tableau 22, annexe 7), nous pouvons supposer que les mouvements de graines entre ces derniers sont réduits. En effet, l'arrivée d'une structure de dissémination sur des îles aussi isolées est un événement rare qui se produit exceptionnellement sur des millions d'années (Carlquist, 1999). La différenciation d'une espèce est donc très rapide à partir du moment où elle colonise une île. En effet, le génome d'origine de la population ne comporte qu'une fraction de la diversité génétique de la population source. De plus, la faiblesse des effectifs initiaux la soumet fortement à la dérive génétique. Enfin, le nouvel environnement exerce sur elle des pressions de sélection qui vont faire diverger ses traits d'histoire de vie de ceux de la population mère (Blondel, 1995).

Suite à la colonisation, les échanges de gènes ont du être très faibles. Ainsi, les populations des différents archipels auraient divergées. La distance génétique est d'ailleurs maximale à partir de 500 km (le coefficient de corrélation linéaire est significatif mais à la vue du graphique, le modèle linéaire n'est pas pertinent).

3°) Structuration intra-archipel

Pour la structure au sein des archipels, chacun constitue un cas particulier. Aux Australes, la diversité est très structurée entre les deux îles, chacune présentant des chlorotypes spécifiques. En effet, elles sont très éloignées l'une de l'autre, limitant ainsi les échanges par graine. Enfin, compte tenu de l'âge élevé des îles, le santal a pu évoluer depuis

longtemps. Il a donc pu diverger entre les deux îles via la dérive et des mutations du génome chloroplastique. Aux Marquises, nous observons une forte différenciation entre Nuku Hiva et le groupe « îles sud – Ua Pou ». Il ne doit plus y avoir de flux de gènes entre ces deux groupes depuis longtemps. Cependant, il semble étonnant qu'il n'y ait plus de flux entre Nuku Hiva et Ua Pou qui sont relativement proches (56 km, tableau 22, annexe 7). Dans la Société, la structuration n'est pas marquée entre les îles. Ceci pourrait être expliqué par une colonisation plus récente sur cet archipel. Il semble en effet peu probable que les échanges entre les îles de cet archipel soient supérieurs à ceux observés dans les autres archipels.

4°) Structuration intra-île.

La diversité et sa structuration au sein des îles sont très variables. De manière générale dans les petites îles où l'effectif des populations (ou l'échantillonnage) est réduit, la diversité est très faible et très structurée entre populations (Ua Pou, Fatu Hiva, Rapa, Raiatea). Il y a donc peu de flux de gènes par graine. Ceci doit être lié à la conjonction de la fragmentation des populations par l'exploitation, de la disparition des disséminateurs et des problèmes de régénération liés à la prédation par les rats. Tahuata est cependant une exception parmi les petites îles faiblement échantillonnées. La diversité y est également structurée mais elle est très élevée. Il s'avère que le Santal semble y trouver de bonnes conditions pour la dynamique de ses populations (Butaud, comm.pers.).

Dans les îles plus grandes le cas de Nuku Hiva semble particulièrement intéressant. La diversité y est relativement peu structurée par rapport aux autres îles. Or les seules populations d'oiseaux disséminateurs (*Ducula sp*) du santal Marquisien encore présentes se trouvent sur cette île. Jusqu'à l'arrivée des européens ces carpophages étaient encore répandus sur toute l'île. Actuellement, leurs niches sont limitées aux vallées du nord et de l'ouest à Nuku Hiva et ils ont totalement disparus sur les autres îles marquisiennes. Certaines populations de santal semblent néanmoins isolées: les trois populations de basse Terre déserte (Maauu, Vaiteheii et Motuhee) sont monomorphes. Les populations les plus diversifiées sont celles des crêtes et des hauts plateaux humides offrant de vastes espaces favorables et contigus, sans obstacle naturel, disponibles pour les santals. De plus, ces régions, difficiles d'accès, ont longtemps été épargnées par les Santaliers. La faible diversité des populations de Basse Terre Déserte peut être le résultat de divers facteurs : une colonisation plus récente, une exploitation plus intense, des conditions plus difficiles (sécheresse) et l'absence de flux entre

ces populations et les populations d'altitude. Par ailleurs, ces populations sont constituées d'arbres très rapprochés. Il se peut donc qu'elles soient essentiellement constituées de clones issus de rejets et drageons suite à l'exploitation et au passage du feu.

Grâce aux localisations précises des individus dans les populations, nous pouvons étudier la structuration intra-population au sein des îles. Dans la population du Rotui à Moorea (Carte Rotui, annexe 5) ou de Toovii à Nuku Hiva, chaque sous-population est représentée par un chlorotype. La diversité est donc structurée dans la population. Ceci peut être le résultat d'une multiplication végétative importante, une sous-population étant alors constituée de clones issus d'un seul individu. L'absence de disséminateurs peut aussi être une cause potentielle, le santal serait donc soumis à une dissémination par barochorie. Une analyse de diversité future, basée sur les microsatellites nucléaires permettra d'évaluer avec plus de certitudes les effets de la multiplication végétative. Enfin, plus récemment, les flux de gènes sont quasiment anéantis par la prédation des graines par les rats. Ce phénomène récent ne doit pas être la cause directe de l'isolement des sous-populations mais il risque de l'accentuer sur le long terme.

B. DISTRIBUTION DES CHLOROTYPES ET COLONISATION DU SANTAL SUR LES ILES DE POLYNESIE

Les analyses phylogéographiques sont basées sur l'interprétation de la congruence ou l'absence de congruence entre la distribution géographique des chlorotypes et leurs relations généalogiques. Lorsque des groupes de chlorotypes très liés sur le plan phylogénique se retrouvent uniquement dans la même zone géographique, nous pouvons en déduire que les flux géniques sont réduits depuis longtemps. Ceci est observé quand la dissémination est réduite car les nouvelles mutations restent localisées dans leur contexte géographique d'origine. Corollairement, le chlorotype le plus ancien devrait être localisé au centre du réseau et être dispersé géographiquement, alors que le chlorotype le plus récent devrait être situé à une extrémité du réseau et localisé (Schaal, 1998). Dans le cas présent, les chlorotypes les plus centraux dans le « minimum spanning network » sont ceux des Australes. Ils ne sont pas les plus fréquents mais sachant que ces îles sont les plus anciennes de Polynésie française (tableau 21) nous pouvons supposer que la colonisation du Santal dans les îles de Polynésie française s'est faite par ce moyen là. Leur faible effectif pourrait s'expliquer par le recul des

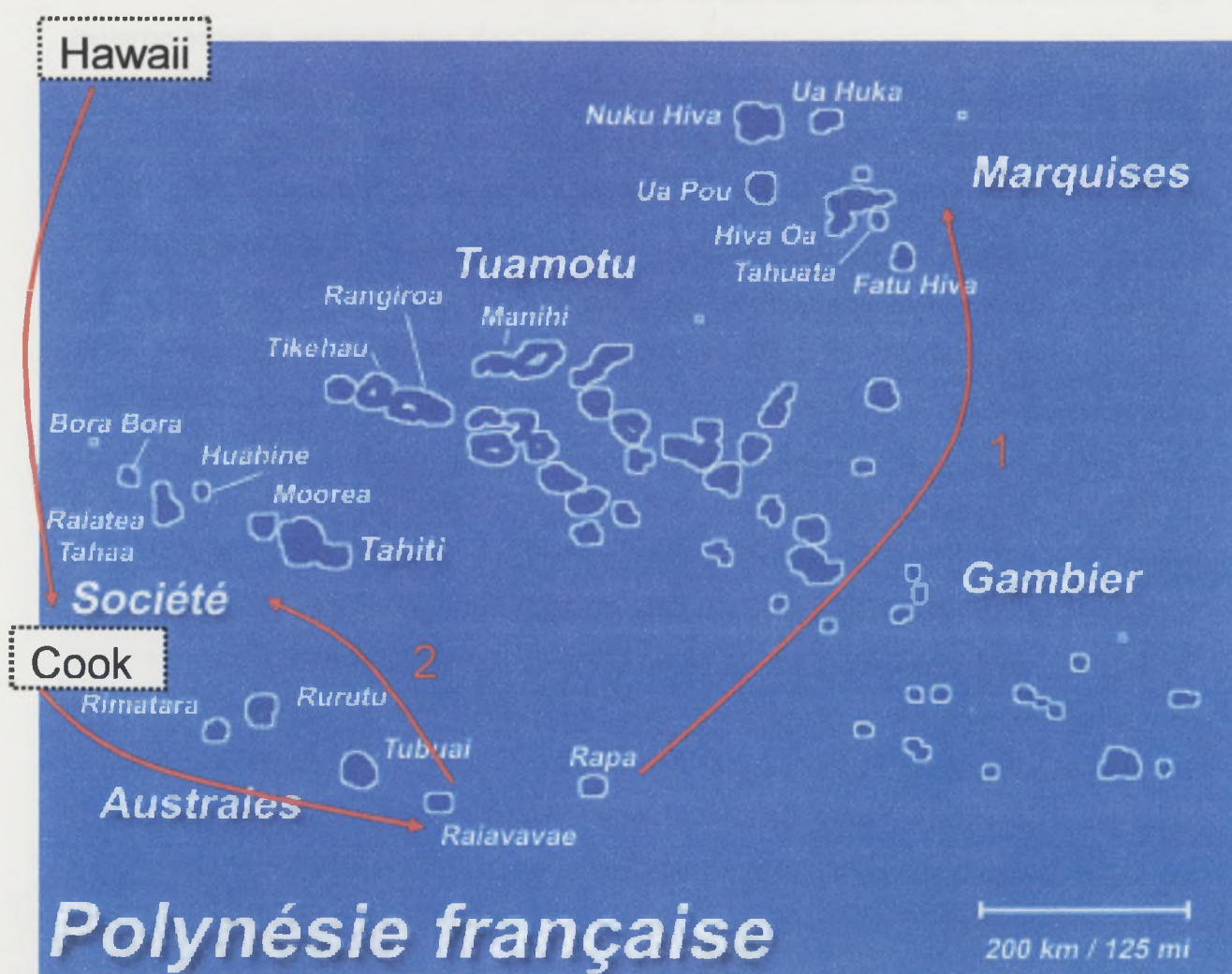
populations dans ces îles et le faible échantillonnage. D'autre part, le fait que le chlorotype des individus de Mitiaro (îles Cook) soit retrouvé à Raivavae laisse supposer que la colonisation aurait pu se faire par le biais de cette île. En effet, ce sont des îles volcaniques originaires du même point chaud. Les îles se forment et se déplacent au fur et à mesure selon une orientation sud-est / nord-ouest, donnant ainsi naissance à des archipels géologiques composés d'îles réparties à distance plus ou moins régulière, la plus âgée située au nord-ouest. Les îles « matures » s'enfoncent ensuite au fur et à mesure dans la croûte océanique, et ne sont donc parfois plus émergées. Il est donc possible d'imaginer que le passage entre Mitiaro (île la plus ancienne à l'ouest) et Raivavae (île plus récente) ait été facilité par des îles intermédiaires dont certaines sont aujourd'hui disparues. En effet, les fruits du santal sont des drupes. Le mode de dispersion le plus probable est donc une dissémination par les oiseaux. Cependant, les oiseaux frugivores ne migrent généralement pas sur de longues distances. Un coucou est néanmoins connu pour sa capacité à migrer de la nouvelle Zélande vers la Polynésie française. Il existe donc des disséminateurs potentiels des graines de santal dont les migrations auraient pu être facilitées par ces îles intermédiaires.

Enfin, en ce qui concerne l'arrivée sur les îles Cook, nous pouvons émettre certaines hypothèses. Le genre *Santalum* a été divisé en trois sections par le taxinomiste Skottsberg : *Santalum* dans le Pacifique Ouest et Hawaii, *Hawaiiensia* endémique d'Hawaii et *Polynesica* dans la Polynésie orientale et les îles Juan Fernandez (Skottsberg 1938 in Fosberg, 1985). Fosberg, en se basant sur des critères morphologiques, regroupe les sections *Hawaiiensia* et *Polynesica* en une seule et même section *Hawaiiensa* (Fosberg, 1985). Les espèces du genre *Santalum* les plus proches du santal de Polynésie se trouveraient donc à Hawaii. Ainsi, compte tenu de l'âge de l'archipel des îles Hawaii comparé à l'archipel de Cook-Australes (respectivement, 45 et 19 millions d'années) et de la grande diversité de Santal observée sur cet archipel (4 espèces), nous pouvons supposer que l'origine du santal Polynésien est à Hawaii. Le temps écoulé depuis la colonisation du santal sur cette île lui a permis de se diversifier par des phénomènes de spéciation. Il aurait donc pu coloniser la Polynésie via Mitiaro. Une étude phylogénétique du genre *Santalum* permettrait d'appuyer ou d'infirmer cette hypothèse (en cours, Harbaugh, université de Berkeley). Des cas de genres endémiques des îles Cook, Australes et Hawaii sont déjà connus. L'exemple des genres *Myoporum* et *Nesoluma* (également présent à Tahiti et Moorea) confirme que des mouvements d'espèces ont eu lieu entre Hawaii et le chaînon Cook-Australes (Florence, 1997). Reste néanmoins à confirmer l'âge d'apparition de *Santalum insulare* pour confirmer ces hypothèses.

Tableau 21 : Age et superficie des îles (Bianchini *et al.* 2003)

	Age (millions d'années)	Superficie (km ²)
Tahiti	1	1045
Moorea	1,5	125
Raiatea	2,5	171
Raivavae	7	17
Rapa	5	40
Nuku Hiva	3,1 à 4,8	340
Ua Pou	1,8 à 3	105
Hiva Oa	1,5 à 2,5	315
Tahuata	1,6 à 2,8	69
Fatu Hiva	1,3 à 2,4	84
Mitiaro	> 7	23
Iles Hawaii	45	

Figure 8 : hypothèse des voies de colonisation du santal



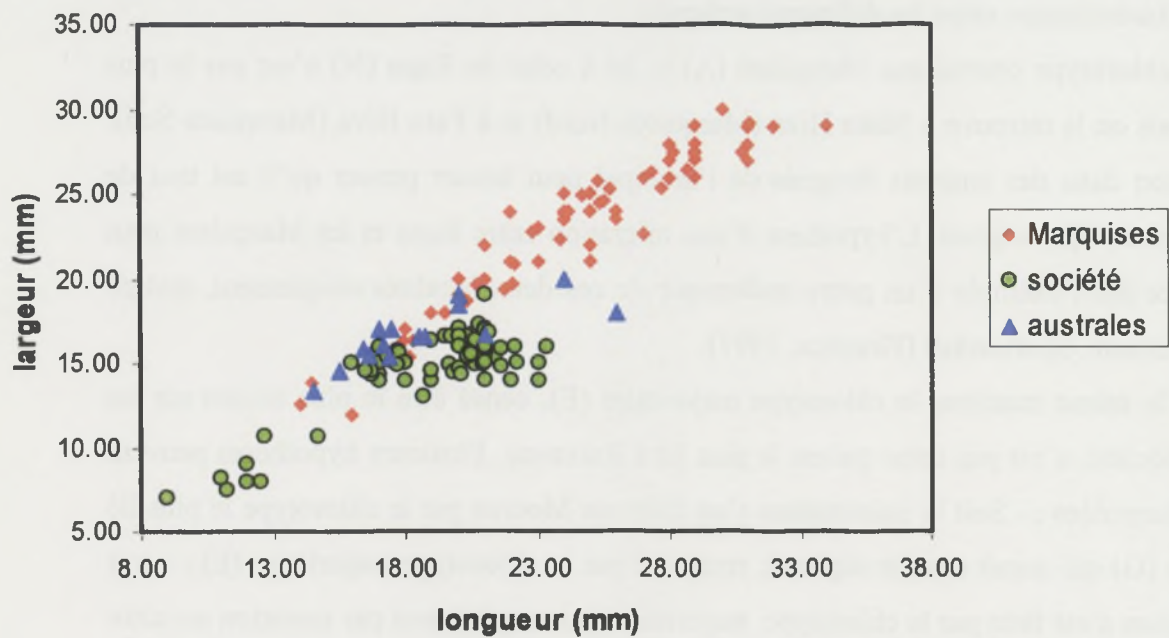
A partir de l'hypothèse de colonisation de la Polynésie par les Australes, nous pouvons étudier la dissémination entre les différents archipels.

Le chlorotype central aux Marquises (A) et lié à celui de Rapa (N) n'est pas le plus répandu mais on le retrouve à Nuku Hiva (Marquises Nord) et à Fatu Hiva (Marquises Sud). Sa dispersion dans des endroits éloignés de l'archipel peut laisser penser qu'il est tout de même le chlorotype originel. L'hypothèse d'une migration entre Rapa et les Marquises peut être appuyée par l'exemple d'un genre endémique de ces deux localités uniquement, malgré leur éloignement: *Oparanthus* (Florence, 1997).

De la même manière, le chlorotype majoritaire (E), censé être le plus ancien sur les îles de la Société, n'est pas celui qui est le plus lié à Raivavae. Plusieurs hypothèses peuvent donc être formulées : - Soit la colonisation s'est faite sur Moorea par le chlorotype le plus lié à Raivavae (G) qui aurait ensuite régressé, remplacé par le chlorotype majoritaire (E) ; - soit la colonisation s'est faite par le chlorotype majoritaire qui aurait donné par mutation un autre chlorotype dont la liaison à Raivavae est due au hasard. Enfin, il aurait pu y avoir deux événements de colonisation. Dans tous les cas, les individus porteurs du chlorotype E majoritaire se sont bien répandus sur l'ensemble des îles. Tout comme pour les Marquises, nous connaissons le cas d'un genre présent seulement aux Australes et Cook et dans la Société (*Fitchia*, Florence, 1997). Ces informations doivent cependant être traitées avec précaution, il existe également des exemples d'espèces partagées uniquement entre la Société et les Marquises (Florence, 1997).

En résumé, entre les archipels, deux événements de colonisation ont du avoir lieu à partir des Australes. Le plus ancien vers l'archipel des Marquises apparut il y a 4 millions d'années et le plus récent vers l'archipel de la Société apparut il y a environ 2.5 millions d'années (figure 8 et tableau 21). La répartition inégale de la diversité entre les archipels pourrait alors être liée au temps écoulé depuis leur colonisation par le santal.

Figure 6 : distribution des populations des trois archipels selon la taille des graines



C. VARIATION DES CARACTERES QUANTITATIFS

1°) Structuration de la variation

Les études menées sur les caractères des graines et des feuilles chez des arbres forestiers continentaux indiquent souvent que la majeure part de la variation est située au sein des populations (Maley & Parker, 1992 ; Bani-Aameur & Ferradous, 2001). Chez *Santalum insulare*, la variance est au contraire majoritairement expliquée par les variations inter population et inter île, surtout pour les caractères des graines. Cette structuration de la variation est certainement liée à l'insularité (isolement et effet de dérive accentué dans les petites populations).

Au sein des archipels et des îles étudiées, nous n'observons pas de tendance générale de la répartition de la variation. Celle-ci ne peut s'expliquer que par une étude au cas par cas en prenant en compte les facteurs explicatifs.

2°) Facteurs expliquant la structuration de la variation

a) Structuration inter archipels (figures 6 et 7)

En modèle fixe, nous avons pu mettre en évidence des différences entre les archipels pour les caractères feuilles et graines (annexe 8). Cette différenciation est certainement liée à l'isolement génétique entre les archipels mis en évidence par les marqueurs moléculaires. De plus, les archipels présentent des différences écologiques : les Marquises sont marquées par un climat plus sec et plus chaud, tandis que les Australes présentent des conditions plus fraîches et humides.

Cependant pour les caractères des graines, les différences sont peu significatives. Les pressions de sélection agissant sur les graines doivent être semblables dans les trois archipels, conduisant ainsi à une convergence morphologique des différents santals. Ces informations doivent cependant être relativisées par le déséquilibre de l'échantillonnage.

b) Structuration inter îles

De manière générale, la répartition de la variance au sein de chaque archipel est cohérente avec la structuration mise en évidence par les marqueurs moléculaires.

Les archipels dont les îles sont bien différenciées sur le plan moléculaire (Marquises et Australes) montrent une variation inter île forte pour les caractères quantitatifs. Ce phénomène peut refléter un isolement génétique, plus ou moins récent suivant le degré de différenciation, lié à la distance et/ou à la disparition des disséminateurs. Par ailleurs, cette divergence des traits quantitatifs entre les îles peut témoigner de l'existence de pressions de sélection différentes entre celles-ci. L'archipel de la Société, dont les îles sont peu différenciées sur le plan moléculaire, présente une variance inter île quasiment nulle pour les caractères quantitatifs. Ceci peut être le résultat d'un maintien du flux de gènes entre ces îles (au moins par le pollen) ou d'un isolement plus récent. Les santals des différentes îles n'auraient pas encore eu le temps de diverger en réponse aux différentes pressions de sélection.

Ces résultats sont surtout représentatifs pour les caractères des graines. En effet, dans l'analyse sur les feuilles, la variance inter île est toujours nulle sauf aux Australes.

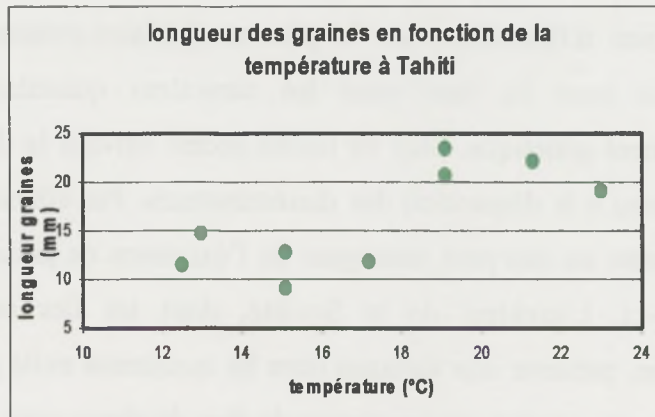
c) Structuration intra île

Au sein de certaines îles, la majeure partie de la variance est expliquée par la variation inter populations. Dans ces îles, les populations sont isolées dans des milieux différents (Nuku Hiva et Tahiti). Aucun dispositif expérimental n'a été mis en place en Polynésie française pour évaluer la part des effets environnementaux et des effets génétiques responsables de cette différenciation. Néanmoins, des études de ce type menées sur *Santalum austrocaledonicum* en Nouvelle Calédonie ont mis en évidence l'existence d'une base génétique pour la variation de la taille des graines entre des populations provenant de milieux différents (Bouvet, comm. Pers.). Nous pouvons donc supposer qu'il en va de même pour *Santalum insulare*.

Entre population d'une même île, il semble difficile d'imaginer qu'il n'y ait aucun flux de gène. Les pressions de sélection agissant dans ces différents milieux doivent donc être suffisamment fortes pour éviter une homogénéisation des différentes populations.

Les principales différences écologiques observées entre ces populations sont liées à des différences d'altitude. Il semble donc intéressant d'évaluer les relations entre les variations

Figure G4



des caractères quantitatifs et les variations liées à l'altitude (essentiellement pluviométrie et température).

Evolution de la taille des feuilles et des graines avec l'altitude, la pluviométrie et la température.

La taille des graines augmente avec l'altitude fortement corrélée à la pluviométrie. Elle doit donc être influencée par le facteur pluviométrie. Ces résultats coïncident avec les observations de Carlquist (1999) à Hawaïi. Dans les régions tropicales, les graines des zones humides sont plus grosses. Carlquist l'explique, d'un point de vue évolutif, par le besoin d'accumuler plus de réserves pour survivre dans des forêts ombragées où la compétition est plus importante. La même relation est observée chez les Karité (*Vitellaria paradoxa*) au Mali (Sanou *et al.*, in press). Il existe également des cas où la relation inverse a été mise en évidence. Dans le genre *Glycine*, en Australie, la taille des graines augmente depuis la côte Est tempérée vers l'intérieur des terres arides. Les auteurs expliquent cette évolution par un besoin en eau plus important dans les zones sèches (Murray *et al.*, 2004). Chez *Albizia procera*, les plantules issues de grosses graines sont plus tolérantes à des stress hydriques à long terme. Les grosses graines sont donc sélectionnées sous des conditions de sécheresse (Khurana and Singh, 2001). Les relations sont donc différentes selon les espèces et les climats.

Chez le santal, la relation s'inverse à partir d'une certaine altitude. Au-delà de 1000 mètres (ou 3000 mm de pluie par an), la taille des graines diminue avec l'altitude. Deux causes peuvent être avancées pour expliquer ce phénomène : - soit la taille des graines diminue à partir d'une certaine valeur des précipitations ; - soit le facteur température vient contre-balancer le facteur pluviométrie. Ayant pu mettre en évidence une corrélation positive entre la taille des graines et la température (figure G4), nous pouvons supposer que la deuxième cause est la plus probable. Ainsi, à partir de 1000 mètres l'effet négatif de la baisse de température prendrait le dessus sur l'effet positif de l'augmentation de la pluviométrie. Nous pouvons également supposer que les causes agissent simultanément si, à partir d'un certain seuil, l'augmentation des précipitations n'a plus d'effet sur la taille des graines.

Pour les feuilles, nous observons une corrélation plus faible entre leur taille et les données climatiques. La plupart des auteurs rapportent que la taille des feuilles diminue avec la baisse des précipitations (Sanou *et al.*, in press ; Fonseca *et al.*, 2000). En effet, la réduction de la surface foliaire permet de limiter l'évaporation dans un environnement sec (Khurana &

Singh, 2001, MacDonald *et al.*, 2003). La taille des feuilles doit répondre à un équilibre entre une surface maximale pour optimiser l'absorption du CO₂ et une surface minimale pour minimiser l'évaporation (Parkhurst & Loucks, 1972). Mais les auteurs observent également une diminution de la taille des feuilles avec l'altitude (MacDonald *et al.*, 2003 ; Parkhurst & Loucks, 1972). Les variations d'altitude sont en effet accompagnées par des variations de divers paramètres : température, vent, intensité lumineuse, humidité relative de l'air... Nous pouvons donc penser que chez les santals de Polynésie française, comme les précipitations sont elles aussi fonctions de l'altitude, les divers facteurs liés à l'altitude et les précipitations agissent chacun dans des directions opposées. Nous ne pouvons donc pas visualiser une tendance générale.

d) Structuration intra population

Au sein d'une même population, les pressions de sélection doivent être semblables car les arbres sont soumis au même environnement. Cependant, il est important de garder à l'esprit que ceci dépend de la manière dont sont définies les populations. En Polynésie française, les dénivelés sont parfois très importants sur de courtes distances. Une même population peut alors s'étendre sur des altitudes différentes ce qui peut expliquer la forte proportion de variance inter arbre observée dans certains cas.

Au contraire, la faible valeur associée à la variance inter arbre dans la population du Pic vert attire notre attention. Cette répartition de la variance peut être expliquée par la proximité des arbres qui subissent donc le même environnement. Nous pouvons également supposer que ces arbres sont des clones. Une majorité des arbres échantillonnés présentent en effet le même chlorotype. Seulement trois sont éloignés des autres et présentent des chlorotypes différents (carte Pic vert, annexe 5).

De manière générale, la variance intra-arbre est toujours assez élevée dans les trois populations (environ 30 % de la variance totale pour de nombreuses variables). Bien que le poids des graines (qui est lié à la taille) soit considéré comme l'un des caractères les moins variables chez les plantes, de nombreux auteurs observent des variations intra-arbre chez différentes espèces (Vaughton and Ramsey, 1998). De plus, dans notre cas, compte tenu des contraintes liées aux rats et à l'isolement des populations, les récoltes ont été effectuées sur plusieurs années. La variance inter arbre calculée comprend donc une variation inter-annuelle qui n'est pas prise en compte dans l'analyse. Pour les feuilles, la variance intra-arbre est

également assez élevée indiquant que les effets de l'environnement jouent également un rôle important dans la taille des feuilles.

D. PERSPECTIVES POUR LA CONSERVATION

La diversité génétique intra spécifique est l'un des trois niveaux de la biodiversité dont la préservation est recommandée par l'UICN pour la conservation des espèces (Reed & Frankham, 2003). Cette recommandation s'appuie sur deux principes. D'une part, la diversité génétique est nécessaire pour que les populations puissent évoluer en réponse aux changements environnementaux. D'autre part, elle permet d'éviter les conséquences négatives de la consanguinité chez les espèces allogames (Reed & Frankham, 2003 ; Cavers *et al.*, 2003). L'évaluation de la diversité intra-spécifique est donc devenue un paramètre fondamental pour la gestion des espèces et le développement de stratégies de conservation efficaces (Newton *et al.*, 1999). Par ailleurs, la connaissance de la structuration de la diversité permet de déceler des divergences entre populations. Ces données peuvent guider des campagnes de renforcement des populations ou de réintroduction.

Dans notre étude deux approches ont été utilisées pour évaluer la diversité et sa structuration: des marqueurs moléculaires neutres et des caractères quantitatifs. L'utilisation des marqueurs neutres pour évaluer le potentiel adaptatif des espèces doit cependant être considérée avec précaution (Lynch *et al.*, 1999). En effet, la part du génome sur laquelle est mesurée la diversité n'est pas soumise à la sélection. De plus, ces marqueurs peuvent perdre de la variation génétique plus vite que les gènes impliqués dans l'adaptation. Une perte de variation moléculaire n'implique donc pas nécessairement une perte de potentiel adaptatif (Reed & Frankham, 2003). Enfin, la dynamique évolutive des marqueurs moléculaires et des traits adaptatifs est très différente à cause des différences de taux auxquels de nouvelles variations sont introduites dans les populations. De nouveaux variants moléculaires sont introduits avec un taux de 10^{-5} à 10^{-8} par génération, alors que des variations dans les caractères quantitatifs sont introduits avec un taux de 10^{-2} à 10^{-3} par génération (Hoslinger, 1996).

Néanmoins, le polymorphisme neutre enregistre l'histoire démographique et évolutive des populations. Il permet donc de repérer des événements passés de dérive, de goulot

d'étranglement ou d'effet de fondation qui influencent certainement l'expression du polymorphisme sélectionné (Godelle *et al.*, 1998). D'autre part, les marqueurs moléculaires fournissent des informations sur les différenciations et les flux de gènes entre populations (Holsinger, 1996). Il existe à ce niveau un lien entre le polymorphisme neutre et sélectionné. En effet, la structuration spatiale des populations agit sur ces deux types de polymorphisme. Elle affecte le polymorphisme neutre en favorisant la dérive locale et en réduisant les flux de gènes. Le polymorphisme sélectionné, quant à lui, évolue dans la mesure où les populations sont soumises à des pressions de sélection différentes. De plus, ces adaptations locales sont maintenues par l'hétérogénéité spatiale (Godelle *et al.*, 1998). Bien que ce ne soit pas toujours le cas, la structure génétique mise en évidence par les marqueurs moléculaires peut donc fournir des informations sur la structure génétique pour les traits morphologiques.

Dans ce contexte, l'utilisation des microsattellites chloroplastiques nous a semblé bien adaptée pour étudier l'histoire évolutive des populations. L'hérédité maternelle des chloroplastes, observée chez la plupart des angiospermes, leur confère un niveau de différenciation génétique plus élevé que pour les caractères hérités des deux parents (Andrianoelina *et al.*, in press). En effet, les flux de gènes par les graines sont limités par leur dispersion moins efficace que celle du pollen. Ils sont bien adaptés pour mettre en évidence la structure des populations. De plus, le caractère haploïde du génome chloroplastique se traduit par un effectif efficace réduit. Leur sensibilité aux réductions de la taille des populations (effectif efficace réduit), les rend ainsi très utiles pour la détection de goulots d'étranglements et des phénomènes de dérive (Parducci *et al.*, 2001 ; Provan *et al.*, 2001). Ils permettent ainsi de mettre en évidence des lignées évolutives.

Dans les programmes de conservation, il est rarement possible de préserver toutes les populations. L'identification de lignées évolutives chez une espèce menacée vise donc à élaborer des stratégies de conservation permettant de retenir un maximum de diversité génétique (Moritz & Faith, 1998). Le concept d'unités évolutives significatives (Evolutionary Significant Units, ESU) a été initialement proposé par Ryder (1986, in Crandall, 2000) afin d'aider à la définition d'unités de conservation (Moritz 1994, Newton *et al.* 1999). Il a d'abord été décrit comme des unités de population qui présentent actuellement une variation adaptative différenciée basée sur la concordance entre des jeux de données dérivés de différentes techniques (Crandall, 2000). Moritz (1999) recommande l'utilisation des marqueurs moléculaires pour définir ces unités de gestion comme des groupes de populations historiquement isolés. Ce concept peut être appliqué aux arbres forestiers quand des données

chloroplastiques et nucléaires sont disponibles (Newton *et al.* 1999). Les ESU doivent présenter une divergence significative pour les haplotypes et une différence significative des fréquences alléliques aux loci nucléaires. Au sein d'un ESU, les différents haplotypes doivent être monophylétiques (Frankham *et al.*, 2002). Notre étude fournit donc une trame dans la définition de ces unités, les groupes de chlorotypes proches étant considérés comme des groupes monophylétiques. Nous proposons donc 4 unités de conservation pour guider la gestion du santal de Polynésie française : l'archipel des Marquises, de la Société, Raivavae et Rapa. Cette information devra être complétée par l'étude des marqueurs nucléaires. Ces unités, évolutivement isolées, doivent faire l'objet d'une gestion séparée afin de maintenir le processus évolutif de l'espèce (Moritz, 1995).

Dans chaque unité évolutive, l'attention peut porter sur des populations différenciées sur le plan adaptatif. L'analyse quantitative peut nous guider dans le choix des populations devant faire l'objet d'une conservation particulière au sein d'un ESU. Le maximum de variation adaptative doit être maintenu, en supposant qu'elle soit liée à une variation génétique sous-jacente. Aux Marquises et dans la Société, la variation est liée à la présence de populations de haute altitude et de basse altitude en réponse à des pressions de sélection différentes. Ces populations peuvent donc être définies comme des unités de conservation au sein de chaque ESU. En effet, elles participent à la diversité en raison de leur divergence liée à un isolement génétique et/ou à des pressions de sélection différentes. Après avoir déterminé ces unités, il faut définir des stratégies de gestion. A ce propos, les stratégies proposées sont très différentes suivant les auteurs.

L'UICN et certains auteurs déconseillent de mélanger des populations divergentes et préconisent une conservation des adaptations locales (Moritz, 1999). En effet, celles-ci participent à la diversité adaptative de l'ESU. De plus, les croisements entre populations divergentes peuvent conduire à une dépression de « outbreeding » à cause des divergences génétiques adaptatives (Mc Kay & Latta, 2002). Ce phénomène a été mis en évidence de manière empirique chez certaines plantes (Moritz, 1999 ; Frankham *et al.*, 2002). Il est plus fréquent quand les croisements se font entre des plantes qui ont subi une adaptation significative et quand la dispersion est limitée. Les caractères mesurés dans notre étude (taille des graines et des feuilles) ne sont pas directement liés à la fitness, mais nous pouvons supposer que leur divergence témoigne de la présence de pressions de sélection différentes qui peuvent également agir sur des caractères plus directement impliqués dans l'adaptation (production de graines et durée de viabilité...). Dans ce contexte, des stratégies de

conservation de chacune des unités séparément seront conseillées. Les gestionnaires devront faire des aménagements permettant à ces populations de se régénérer en éliminant les rats, en limitant l'entrée des chèvres au sein des populations, en évitant au maximum l'exploitation illégale, les feux...

Cependant, nous avons pu remarquer que dans certaines populations les effectifs et la diversité étaient très réduits. Des études théoriques et empiriques suggèrent que ces populations sont souvent sujettes à une perte de fitness et d'adaptabilité liées à la dérive et à la dépression de consanguinité (Savolainen & Kuittinen, 2000). Elles ne peuvent donc pas se maintenir à long terme si un niveau minimum de diversité n'est pas restauré. Un faible niveau de migration au sein d'une métapopulation peut prévenir ces phénomènes. La restauration de la diversité génétique et l'augmentation de la fitness par l'apport de nouveaux allèles sont des principes reconnus et souvent observés (Heschel, 1994). Les auteurs qui préconisent ce type de stratégies suggèrent que la dépression de « outbreeding » est souvent transitoire et peut être dépassée par la sélection (Moritz, 1999, Frankham *et al.*, 2002). Dans une étude empirique sur des animaux, Hedrick suggère que 20 % de migrations pour une génération puis quelques % pour les générations futures permet de renverser la dépression de consanguinité sans éliminer les allèles localement adaptés (Hedrick, 1995). Dans les populations où la faiblesse de la diversité sera confirmée par les marqueurs nucléaires, il semble judicieux de proposer une gestion visant à rétablir des niveaux convenables de diversité. Face à de telles situations, Moritz suggère une gestion qui vise à maintenir le processus évolutif global, c'est-à-dire les niveaux de flux de gènes plutôt que des entités de phénotypes intra spécifiques. Cet argument est basé sur le principe que des « processus micro évolutifs » permettront par la suite de recréer des phénotypes spécifiques à partir de la diversité mise en place (Moritz, 1999). Ce mode d'action se situe dans une perspective de gestion à long terme visant à rétablir la viabilité et le potentiel adaptatif de l'espèce.

Nous pouvons donc proposer une gestion de chaque ESU séparément afin de maintenir le processus évolutif mis en place à travers l'histoire évolutive de l'espèce. Au sein de chacun d'entre eux, nous pouvons définir des unités de conservation. Ces dernières peuvent être gérées de manière différente suivant leur taux de différenciation et leur niveau de diversité. Quelle que soit la stratégie de gestion, la première action sera de rétablir les potentialités de régénération de l'espèce.

CONCLUSION



Au cours de cette étude nous avons étudié la structuration de la diversité de *Santalum insulare* en Polynésie française en utilisant deux types de marqueurs : les microsatellites chloroplastiques et des caractères quantitatifs. Ceci nous a permis de proposer des hypothèses sur la colonisation du santal sur ces îles et d'évaluer l'impact des différentes forces évolutives. Ceci nous a conduit à proposer certaines recommandations pour la gestion de cette espèce. Cependant, cette étude nécessite des compléments et incite à proposer quelques perspectives de recherche.

L'hypothèse de colonisation du santal en Polynésie française, à partir de l'archipel d'Hawaïi via les îles Cook et les Australes, demande à être appuyée ou infirmée par une phylogénie du genre *Santalum*. Ces travaux sont le sujet d'étude d'une thèse réalisée à l'université de Berkeley. Une publication devrait bientôt nous fournir des informations.

Les microsatellites chloroplastiques ont permis de mettre en évidence des flux de gènes par graines très limités entre les archipels et entre certaines îles du même archipel. Afin, d'évaluer la dynamique des flux de gènes par le pollen, il serait intéressant de mener une étude par microsatellites nucléaires. La banque microsatellites est actuellement en cours de réalisation. Cette étude permettrait par ailleurs de détecter des variations plus précises entre individus, notamment pour évaluer avec plus de certitude l'étendue de la multiplication végétative dans certaines populations.

Certaines îles demandent par ailleurs à être mieux prospectées afin de limiter les déséquilibres liés à l'échantillonnage. En effet, nous avons pu noter que dans certaines îles, les indices de diversité pouvaient être réduits par un échantillonnage plus exhaustif qui inclue certainement plusieurs individus issus d'un même clone (Tahiti par exemple). Dans d'autres, seuls quelques échantillons par population ont été relevés, limitant ainsi les chances d'échantillonner des clones (A Raivavae par exemple).

Il serait également intéressant d'augmenter l'échantillonnage pour les caractères quantitatifs car notre étude est certainement biaisée par le déséquilibre à ce niveau.

Par ailleurs, dans l'étude de l'impact de la sélection naturelle, nous supposons que les variations observées sont plus liées aux effets génétiques qu'environnementaux. Pour vérifier

cette hypothèse, il faudrait mettre en place un dispositif expérimental permettant d'évaluer la part respective des facteurs génétiques et environnementaux.

D'autre part, il serait intéressant de pouvoir comparer la taille des graines de *Santalum insulare* à des espèces continentales du genre *Santalum*. Nous pourrions alors nous intéresser à l'hypothèse de perte d'aptitude à la dispersion en milieu insulaire avancé par plusieurs auteurs (Carlquist, 1999 ; Blondel, 1995).

Enfin, l'analyse par les marqueurs neutres et les caractères quantitatifs nous a permis de proposer des orientations pour la gestion du santal en Polynésie française. La définition des ESU et le niveau de diversité génétique au sein des unités de conservation pourront être confirmés par l'analyse des microsatellites nucléaires. Par ailleurs, il serait intéressant de travailler sur des caractères quantitatifs impliqués dans la fitness et l'adaptation pour vérifier la définition de nos unités de conservation au sein des ESU.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- Andrianoelina O., Rakotondraoelina H., Ramamonjisoa L., Maley J., Danthu P. & Bouvet J-M. 2004. Genetic diversity of *Dalbergia monticola* (Fabaceae) an endangered tree species in the fragmented oriental forest of Madagascar. Biodiversity and Conservation, in press.
- Bani-Aameur F. and. Ferradous A 2001. Fruit and stone variability in three Argan (*Argania spinosa* (L.) Skeels) populations. Forest Genetics 8(1), pp 39-45.
- Barrett S.C.H. 1998. The reproductive biology and genetics of island plants. In Evolution on Islands, pp 19-34.
- Bianchini J. P., Bouvet J-M, Butaud J-F, Raharivelomanana P, Verhaegen D. & Baron V. 2003. Caractérisation du Santal des îles Marquises. Rapport final interne. CIRAD.
- Blondel J. 1995. Biogéographie Approche écologique et évolutive. Masson, Paris. pp 157-184.
- Bryan et al. 1999. Polymorphic simple sequence repeat markers in chloroplast genomes of Solanaceous plants. *Theor Appl Genet*, 99, 859-867.
- Butaud J. F. & Tetuanui W. 2003. Le Santal en Polynésie française. CIRAD-SDR. Polynésie française.
- Carlquist S. 1999. Hawaii a natural history. National Tropical Botanical Garden. pp 81-179.
- Cavalli-Sforza, L.L. & A.W.F. Edwards. 1967. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *Am. J. Hum. Gen.* 19: 233-257.
- Cavers S., Navarro C. & Lowe A. J. 2003. A combination of molecular markers identifies evolutionary significant units in *Cedrela odorata* L. (Meliaceae) in Costa Rica. *Conservation Genetics*, 4, pp 571-580.
- Crandall K.C., Bininda-Emonds O.R.P, Mace G.M. & Wane R.K. 2000. Considering evolutionary processes in conservation biology. *Trends in Ecology and Evolution*, 15, pp 290-295.
- Echt C.S., Deverno L. L., Anzidei M. & Vendramin G.G. 1998. Chloroplast microsatellites reveal population genetic diversity in red pine, *Pinus resinosa* Ait. *Molecular Ecology*, 7, pp 307-316.
- Excoffier L., Smouse P. E. & Quattro J. M. 1992. Analysis of Molecular Variance Inferred From Metric Distances Among DNA Haplotypes: Application to Human Mitochondrial DNA Restriction Data. *Genetics*, 131, pp 479-491.
- Excoffier L. and Smouse P.E. 1994. Using Allele Frequencies and Geographic Subdivision to Reconstruct Gene Trees Within a Species: Molecular Variance Parsimony. *Genetics*, 136, pp 343-359.

- Falconer D.S. & T.F.C. Mackay 1996. Introduction to quantitative genetics. Longman Sci and Tech, Harlow, U.K.
- Felsenstein J. 1993. PHYLIP. Phylogenetic inference package, version 6.1, University of Washington, Seattle. WA.
- Florence J. 1997. Flore de la Polynésie française. Volume 1. Edition de l'Orstom. Paris.
- Fosberg F. R. & Sachet M-H. 1985. Santalum in Eastern Polynesia. *Candollea*, 40, pp 459-470.
- Fonseca C. R., Overton J. M. C., Collins B. & Westoby M. 2000. Shifts in trait-combinations along rainfall and phosphorus gradients. *Journal of Ecology*, 88, pp 964-977.
- Frankham R., Ballou J.D. & Briscoe D.A. 2002. Introduction to conservation genetics. Cambridge University Press.
- Godelle B., Austerlitz F., Brachet S., Colas B., Cuguen J., Gandon S., Gouyon P-H, Lefranc M., Olivieri I., Reboud X. & Vitalis R. 1998. Système génétique, polymorphisme neutre et sélectionné: implications en biologie de la conservation. *Genet. Sel. Evol.*, 30, pp S15-S28.
- Goudet J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversity and fixation indices (version 2.9.3). Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>.
- Haudry A. 2003. Analyse de la structuration et de la variabilité génétique du Santal de Polynésie française par marqueurs microsatellites. Mémoire de maîtrise Cirad-Forêt.
- Hedrick P.W. 1995. Gene flow and genetic restoration: The Florida Panther as a Case Study. *Conservation Biology*, 9, pp 996-1007.
- Heschel M. S. & Paige K. N. 1995. Inbreeding Depression, Environmental Stress, and Population Size Variation in Scarlet Gilia (*Ipomopsis aggregata*). *Conservation Biology*, 9, pp 126-133.
- Holsinger K.E. 1996. The scope and the limits of conservation genetics. *Evolution*, 50, pp 2558-2562.
- Jarne P. J. & Lagoda P. J. L. 1996. Microsatellites, from molecules to population and back. *Trends in ecology and evolution*, 11, pp 424-429.
- Khurana E. & Singh J. S. 2001. Ecology of tree seed and seedlings: implications for tropical forest conservation and restoration. *Current science*, 80, pp 748-757.
- Lynch M., Pfrender M., Spitze K., Lehman N., Hicks J., Allen D., Latta L., Ottene M., Bogue F. & Colbourne J. 1999. The quantitative and molecular genetic architecture of a subdivided species. *Evolution*, 53, pp 100-110.

- Mac Donald P. G., Fonseca C. R., Overton J. C. & Westoby. 2003. Leaf size diversgence along rainfall and soil-nutrient gradients: is the method of size reduction common among clades? *Functional Ecology*, 17, 50-57.
- Maley M.L. and Parker W.H. 1992. Phenotypic variation in cone and needle characters of *Pinus banksiana* (jack pine) in Northwest Ontario. *Canadian Journal of Forestry Research*, pp 43-51.
- McKay J.K. & Latta R.G. 2002. Adaptative population divergence: markers, QTL and traits. *Trends in Ecology and Evolution*, 17, pp 285-291.
- Moles A. T. & Westoby M. 2003. Latitude, seed predation and seed mass. *Journam of Biogeography*, 30, pp 105-128.
- Moritz C. 1995. Uses of molecular phylogenies for conservation. *Philos. Trans. R. Soc.*, 349, pp 113-118.
- Moritz C. 1999. conservation units and translocations : strategies for conserving evolutionary processes. *Hereditas*, 130, pp 217-228.
- Moritz C. & Faith D.P. 1998. Comparative phylogeography and the identification of genetically divergent areas for conservation. *Molecular Ecology*, 7, pp 419-429.
- Murray B. R., Brown A. H. D., Dickman C. R. & Crowther M. S. 2004. Geographical gradients in seed mass in relation to climate. *Journal of Biogeography*, 31, pp 379-388.
- Nei M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc Natl Acad Sci USA*, 70, pp 3321-3323.
- Newton A.C., Allnut T.R., Gillies A.C.M, Lowe A.J. & Ennos R.A. 1999. Molecular phylogeography, intraspecific variation and the conservation of tree species. *Trends in Ecology and Evolution*, 14, pp 140-145.
- Palmé A. E. & Vendramin G.G. 2002. Chloroplast DNA variation, postglacial recolonization and hybridization in hazel, *Corylus avellana*. *Molecular Ecology*, 11, pp 1769-1779.
- Parducci L., Szmith A.E., Madaghiele A., Anzidei M. & Vendramin G.G. 2001. Genetic variation at chloroplast microsatellites (cpSSRs) in *Abies nebrodensis* (Lojac.) Mattei and three neighboring *Abies* species. *Theor Appl Genet*, 102, pp 733-740.
- Parkhurst, D.F. & Loucks, O. L. 1972. Optimal leaf size in relation to environment. *Journal of Ecology*, 60, pp 505-537.
- Provan J., Powell W. & Hollingsworth M. 2001. Chloroplast microsatellites : new tools for studies in plant ecology and evolution. *Trends in Ecology and Evolution*, 16, pp 142-147.
- Raspé O., Saumitou-Laprade P., Cuguen J. & Jacquemart A-L. 2000. Chloroplast DNA haplotype and population differentiation in *Sorbus aucuparia* L. (Rosaceae : Maloideae). *Molecular Ecology*, 9, pp 1113-1122.

- Reed D. H. & Frankham R. 2003. Correlation between Fitness and Genetic Diversity. *Conservation Biology*, 17, pp 230-237.
- Sanou H., Picard N., Lovett P. N., Dembélé M., Korbo A., Diarisso D. & Bouvet J-M. 2004. Phenotypic variation of agromorphological traits of the shea tree, *Vitellaria paradoxa* C.F Gaertn, in Mali. *Genetic Ressources and Crop Evolution*, in press.
- Savolainen O. & Kuittinen H. 2000. Small Population Processes. In *Forest conservation genetics : principles and practices*. Young A., Boshier D. and Boyle T. editors, pp 91-100.
- Schaal B. A., Hayworth D. A., Olsen K. M., Rauscher J. T. & Smith W. A. 1998. Phylogeographic studies in plants : problems and prospects. *Molecular Ecology*, 7, pp 465-474.
- Schneider S., Roessli D. & Excoffier L. 2000. Arlequin version 2000: a software for population genetics data analysis. Genetics and biometrics laboratory, Department of Anthropology, University of Geneva, Geneva, Switzerland.
- Slatkin M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139, pp 457-462.
- Storfer A. 1996. Quantitative genetics: a promising approach for the assessment of genetic variation in endangered species. *Trends in Ecology and Evolution*, 11, pp 343-348.
- Vaughton G. & Ramsey M. 1998. Sources and consequences of seed mass variation in *Banksia marginata* (Proteaceae). *Journal of ecology*, 86, pp 563-573.
- Weising K. & Gardner R. C. 1999. A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms. *Genome*, 42, 9-19.
- Wickneswari R. & Boyle T. J. 2000. Effects of logging and others forms of harvesting on genetic diversity in humid tropical forests. In *Forest conservation genetics : principles and practices*. Young A., Boshier D. and Boyle T. editors, pp 115-122.
- Young A. G. & Boyle T. J. 2000. Forest fragmentation. In *Forest conservation genetics : principles and practices*. Young A., Boshier D. and Boyle T. editors, pp 123-133.

http://www.notre-planete.info/geographie/points_chauds.php

<http://www.ipgp.jussieu.fr/francais/rub-terre/surface/surface-volcanpacifique.html>

<http://www.arnees-polynesie.pf/pagepolynesie/dossieraustrales/baleineetbaleineau.html>

ANNEXES

ANNEXE 1 : Protocole d'extraction *Santalum insulare*

Préparation du tampon :

Prélever le volume de tampon nécessaire pour le nombre d'échantillons prévus et y ajouter du Sulfite de sodium pour une concentration finale de 0.5 %.

Préchauffer le tampon à 65 °c

Extraction :

A partir d'une pesée de 100 mg de feuilles sèches

- 1) broyage des feuilles dans des mortiers avec de l'azote liquide (+ sable si nécessaire)
- 2) ajout de 5 ml de tampon d'extraction à 65 °c
- 3) transvasement du contenu dans des tubes de 13 ml à vis stériles
- 4) incubation 1 heure à 65 °c avec agitation au bain marie (les tubes sont immergés et couchés à l'horizontale)
- 5) sortie des tubes du bain marie et laissés à refroidir sur la paillasse quelques minutes
- 6) ajout de 5 ml de chloroforme / alcool isoamylique 24/1
- 7) agitation à la main par inversion des tubes pendant environ 5 minutes
- 8) centrifugation 15 minutes à 5000 rpm (Sigma 3-10, soit 4500 g)
- 9) récupération des surnageants à la pipette à serum stérile et transvasement dans une nouvelle série de tubes de 13 ml stériles
- 10) rajout de 5 ml de chloroforme / alcool isoamylique
- 11) agitation douce 5 minutes comme précédemment
- 12) centrifugation 15 minutes à 5000 rpm (Sigma 3-10, soit 4500 g)
- 13) récupération des surnageants à la pipette à serum stérile et transvasement dans une nouvelle série de tubes de 13 ml stériles
- 14) ajout de $1/10^{\text{ème}}$ du volume (soit environ 460 μl) d'acétate de sodium 3 M pH=5
- 15) ajout de 5 ml d'isopropanol à température ambiante
- 16) agitation douce jusqu'à parfaite homogénéité des solutions
- 17) congélation à - 20°C pendant 15 minutes environ
- 18) agitation douce des tubes
- 19) centrifugation 5 minutes à 5000 rpm (Sigma 3-10, soit 4500 g)
- 20) élimination de l'isopropanol en versant les tubes doucement
- 21) ajout de 1 ml d'éthanol 70 % froid pour rincer les culots (décollés par agitation et/ou tapotement)
- 22) transvasement dans une série de tubes stériles de 1.5 ml
- 23) centrifugation 5 minutes à 5000 rpm (Sigma 2K15, soit 1956 g) pour attacher les culots au fond des tubes
- 24) élimination de l'éthanol en versant
- 25) séchage de 4 à 5 minutes au speed vac à température moyenne (culot bien sec)
- 26) reprise dans 200 μl d'eau pure stérile
- 27) passage au bain marie à 65 °c pendant 20 minutes maximum.

Tampon d'extraction :

Produits	Concentrations finales	Quantité pour un litre
Tris	100 mM	12.114 g
NaCl	1.4 M	81.82 g
EDTA	20 mM	40 ml de solution à 0.5 M
MATAB	2 %	20 g
PEG 6000	1 %	10 g

Dissoudre ces produits dans 800 ml d'eau pure

Ajuster à pH 8 avec de l'HCl 37 %

Compléter à un litre avec de l'eau pure

Autoclaver et conserver à température ambiante.

ANNEXE 2: PROTOCOLES PCR

Protocole PCR pour les amorces Ccmp 3 et 5:

Mélange réactionnel (10 µl final)

produit	Concentration finale	Volume par échantillon
Tampon 2X *	1X	5 µl
Mélange amorces 3' et 5' 10 µM	0.5 µM	0.5 µl
Taq polymérase 5U /µl	0.1 U/µl	0.2 µl
ADN matrice 5 ng/µl	1 ng/µl	2 µl
Eau		2.3 µl

Conditions PCR (Appareil : Thermocycleur « Stratagème »)

dénaturation	5 min	94 °c	1 cycle
dénaturation	1 min	92 °c	30 cycles
hybridation	1 min	56 °c	
élongation	1 min	72 °c	
élongation	8 min	72 °c	1 cycle

Protocole PCR pour les amorces Ntcp 9 et 39:

Mélange réactionnel (10 µl final)

produit	Concentration finale	Volume par échantillon
Tampon 2X **	1X	5 µl
Mélange amorces 3' et 5' 10 µM	0.2 µM	0.2 µl
Taq polymérase 5U /µl	0.025 U/µl	0.05 µl
ADN matrice 5 ng/µl	1 ng/µl	2 µl
Eau		2.75 µl

Conditions PCR (Appareil : Thermocycleur « Stratagème »)

dénaturation	5 min	94 °c	1 cycle
dénaturation	45 sec	92 °c	30 cycles
hybridation	45 sec	55 °c	
élongation	1 min	72 °c	
élongation	8 min	72 °c	1 cycle

ANNEXE 3

PREPARATION ET REVELATION DES GELS D'ACRYLAMIDE 6%

GEL D'ACRYLAMIDE DE SEQUENCE A 6%

préparation de la solution stock d'acrylamide

solution d'acrylamide, dénaturante

Produit	Quantité	[finale]
urée	210 g	7 M
tampon TBE 10X	50 ml	1 X
acrylamide/bisacrylamide 19:1, 40%	75 ml	6%
eau milliQ	qsp 500 ml	

- dissoudre l'urée dans ≈ 180 ml d'eau milliQ à chaud (50°C maximum)
- ajouter le TBE et l'acrylamide
- compléter à 500 ml avec l'eau milliQ
- filtrer avec une membrane $2\ \mu\text{m}$

stocker dans une bouteille propre, à l'abri de la lumière, en chambre froide.

Préparation du gel

préparation des plaques : sous hotte aspirante

◆ pour un gel 40 cm	◆ pour un gel 50 cm
<p><u>plaque à oreilles</u> : REPEL SILANE - SOLUTION A 10% DANS DU TRICHLOROETHANE</p> <ul style="list-style-type: none"> -verser une flaque d'environ 10 cm de diamètre sur la plaque -étaier avec un papier absorbant, dans tous les sens -laisser sécher -éventuellement terminer en essuyant tout doucement à sec avec un papier optique 	
<p><u>grande plaque</u> : BIND SILANE</p> <p>TMéthanol 95% : 2 ml TMeau pure : 2 ml TMacide acétique 100% : 100 μl TMbind silane : 10 μl</p>	<p><u>grande plaque</u> : BIND SILANE</p> <p>TMéthanol 95% : 2,5 ml TMeau pure : 2,5 ml TMacide acétique 100% : 125 μl TMbind silane : 12,5 μl</p>
<ul style="list-style-type: none"> -verser sur la plaque et appliquer avec un papier absorbant, dans tous les sens -laisser sécher -essuyer avec un papier absorbant imbibé d'éthanol à 95%, dans tous les sens -laisser sécher -répéter 3 fois le nettoyage à l'éthanol en laissant sécher entre chaque passage 	

préparation du gel :

◆ pour un gel 40 cm	◆ pour un gel 50 cm
<ul style="list-style-type: none"> -70 ml de solution d'acrylamide -240 μl d'APS à 10% -100 μl de TEMED 	<ul style="list-style-type: none"> -87,5 ml de solution d'acrylamide -300 μl d'APS à 10% -125 μl de TEMED

REVELATION D'UN GEL DE SEQUENCE AU NITRATE D'ARGENT

ETAPES	TEMPS	PREPARATION DES SOLUTIONS	COMMENTAIRES
FIXATION acide acétique + éthanol 1% 10% (bac gris)	10 minutes	-158 ml d'éthanol à 95% -15 ml d'acide acétique à 100% (ou 15,6 ml d'acide acétique à 96%) -qsp 1,5 l d'eau pure	
RINCAGE eau pure (bac blanc)	1 minute	1,5 l d'eau pure	
PRETRAITEMENT acide nitrique 1,5% (bac vert)	3 minutes	-35 ml d'acide nitrique à 65% -qsp 1,5 l d'eau pure	
RINCAGE eau pure (bac blanc)	1 minute	1,5 l d'eau pure	
IMPREGNATION AgNO ₃ 0,2% (bac rouge)	20 minutes	-15 ml d'AgNO ₃ à 20% -qsp 1,5 l d'eau pure	
RINCAGES eau pure (bac blanc)	30 secondes 30 secondes	1,5 l d'eau pure 1,5 l d'eau pure	ce sont 2 bains successifs dans 2 bacs différents contenant chacun leur volume d'eau
DEVELOPPEMENT Na ₂ CO ₃ + formaldéhyde 30g/l 0,02% (bac blanc)	1 ^{er} bain : jusqu'à apparition des bandes 2 nd bain : jusqu'à coloration souhaitée	préparer 2 solutions dans 2 éprouvettes, avec pour chacune : -45 g de Na ₂ CO ₃ -810 µl de formaldéhyde à 37% -qsp 1,5 l d'eau pure	ces solutions doivent être froides (~10°C) laisser le gel dans le 1 ^{er} bain jusqu'à apparition des bandes. Jeter cette solution et la remplacer par la 2 nd e.
ARRET acide acétique 5% (bac gris)	5 minutes	-75 ml d'acide acétique à 100% (ou 78 ml d'acide acétique à 96%) -qsp 1,5 l d'eau pure	
RINCAGE eau pure (bac blanc)	quelques minutes au minimum	1,5 l d'eau pure	on peut laisser le gel dans l'eau plusieurs jours en stockage

ANNEXE 4

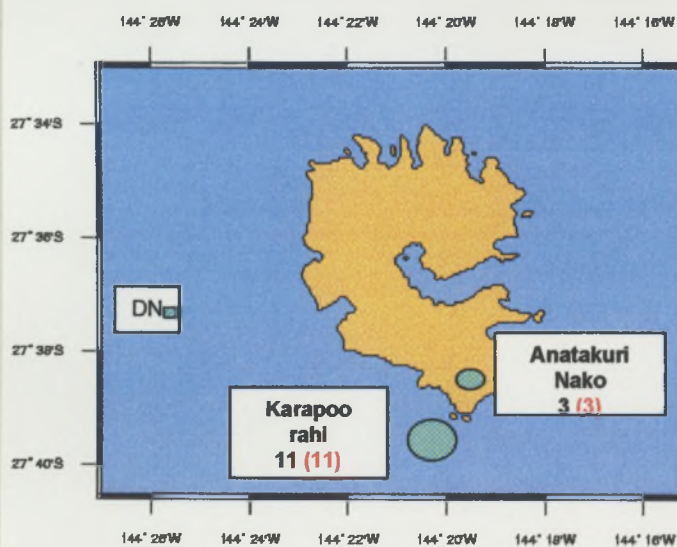
CONDITIONS CLIMATIQUES DANS CHAQUE POPULATION

archipel	ile	Peuplement	altitude	pluviométrie	températures
Australe	Raivavae	Anatonu-Mouatapou	50	1900	
		Ilot Hotuatua	10	1862	
		Mahanato	100	1950	
		Motu Haha	10	1862	
		Motu Mano iti	10	1862	
		Motu Niupapa	10	1862	
		Motu Numiri	10	1862	
		Motu Rani	10	1862	
		Motu Tahaupaetoru	10	1862	
		Motu Vaiamanu	10	1862	
		Peninsule Vaianaua	10	1862	
		Tapioi	120	2000	
	Rapa	Anatakuri	250	3000	
		Karapoo	80	2700	
Marquise	Fatu Hiv	Omoa	450	1670	
		Ouia	400	1850	
	Hiva Oa	Feani	950	3200	
		Hanaavao	339	1350	
		Kaava	659	1900	
		Taaoa	260	1350	
		Tanaeka	480	1350	
	Nuku Hiv	Cretes Toovii	940	3250	
		Hakaui	718	2650	
		Haut TD	1000	3050	
		Maauu	459	1750	
		Motuhee	400	1750	
		Rebord Toovii	810	2850	
		Station	816	3026	
		Tehuhu	780	2800	
		Toovii	840	3026	
		Vaioa	789	2250	
		Vaipupui	750	2050	
		Vaitehei	680	1900	
	Tahuata	Baie ent	330	1800	
		crête Moteve	337	1900	
		Hanameni	300	1500	
		Hanamiai	66	1700	
		Hanapeto	338	1900	
		Hanateio	323	1900	
		Hanatetena	254	1900	
		Hapatonu	373	1900	
		Motopu	160	1500	
		Vaitahu	170	1800	
	Ua Pou	Hakaheta	200	1618	
Societe	Moorea	Fairurani	643	2100	
		Rotui	563	1963	

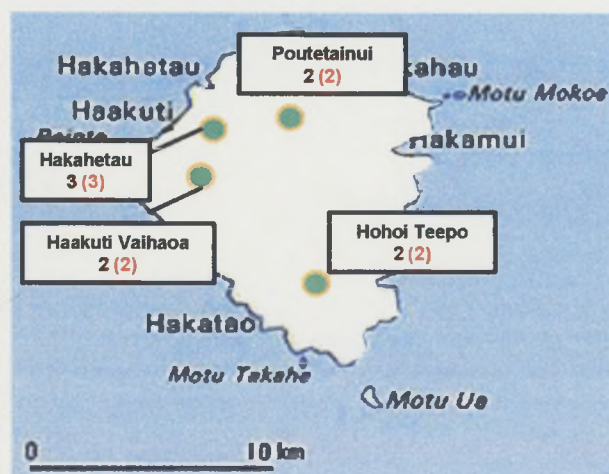
	Raiatea	Tohiea	463	2800	
		Fetuna	320	2000	
		Orotaio	445	3000	
	Tahiti	Col Orofero	1200	4100	19.1
		Crete Papaeva	771	2950	21.3
		Fare Ata	1850	4500	13
		Fare Mato	1394	3900	17.2
		Hamuta	1000	3700	19.1
		Haut de	2050	4500	12.5
		Iviraira	1679	3700	17.2
		Marau	1100	3400	17.2
		Montée Fare Ata	1700	4350	
		Montée Marau	975	2850	
		Orohena	1980	5450	15.1
		Pic Vert	1130	3096	19.1
		Pinai	518	2400	23
		Pito Hit	1937	5350	15.1
		Source Papaeva	1044	3150	19.1
		Tipaerui	921	2650	21.3

ANNEXE 5

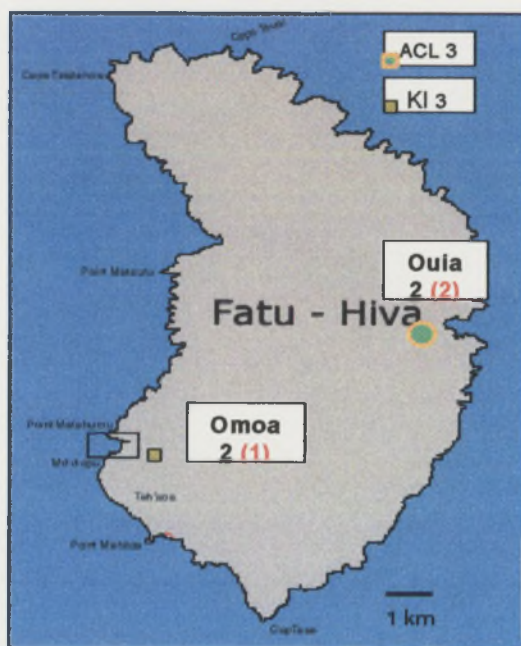
CARTES DE REPARTITION DES CHLOROTYPES AU SEIN DE CHAQUE ILE



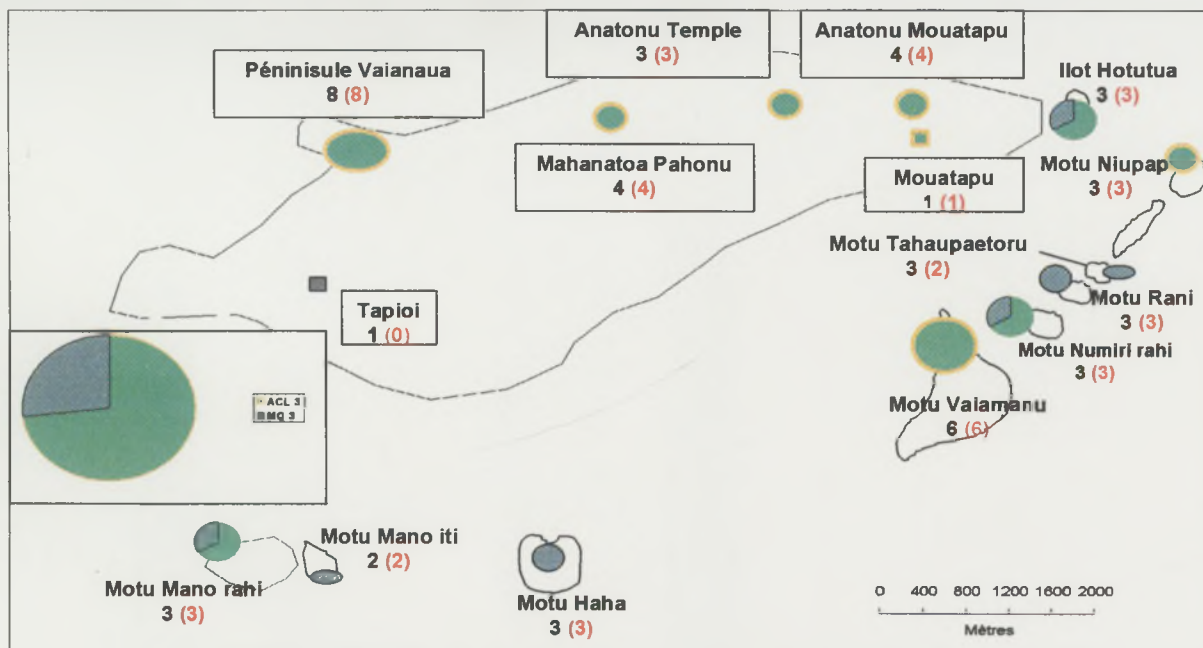
Répartition des chlorotypes sur l'île de Rapa



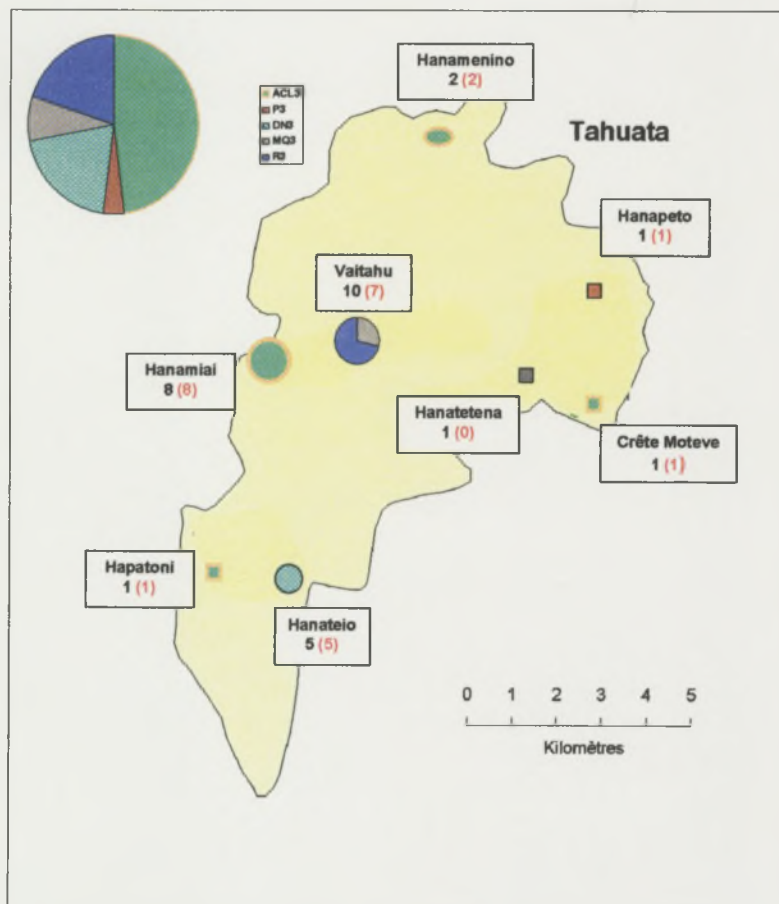
Répartition des chlorotypes sur l'île de Ua Pou



Répartition des chlorotypes sur l'île de Fatu Hiva



Répartition des chlorotypes sur l'île de Raivavae

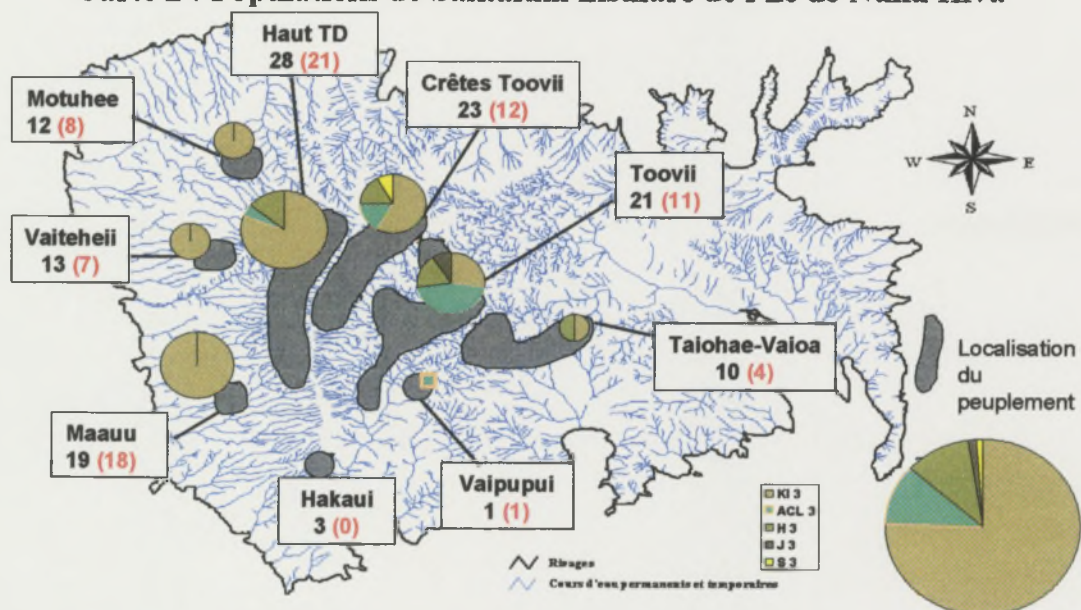


Répartition des chlorotypes sur l'île de Tahuata



Répartition des chlorotypes sur l'île de Hiva Oa

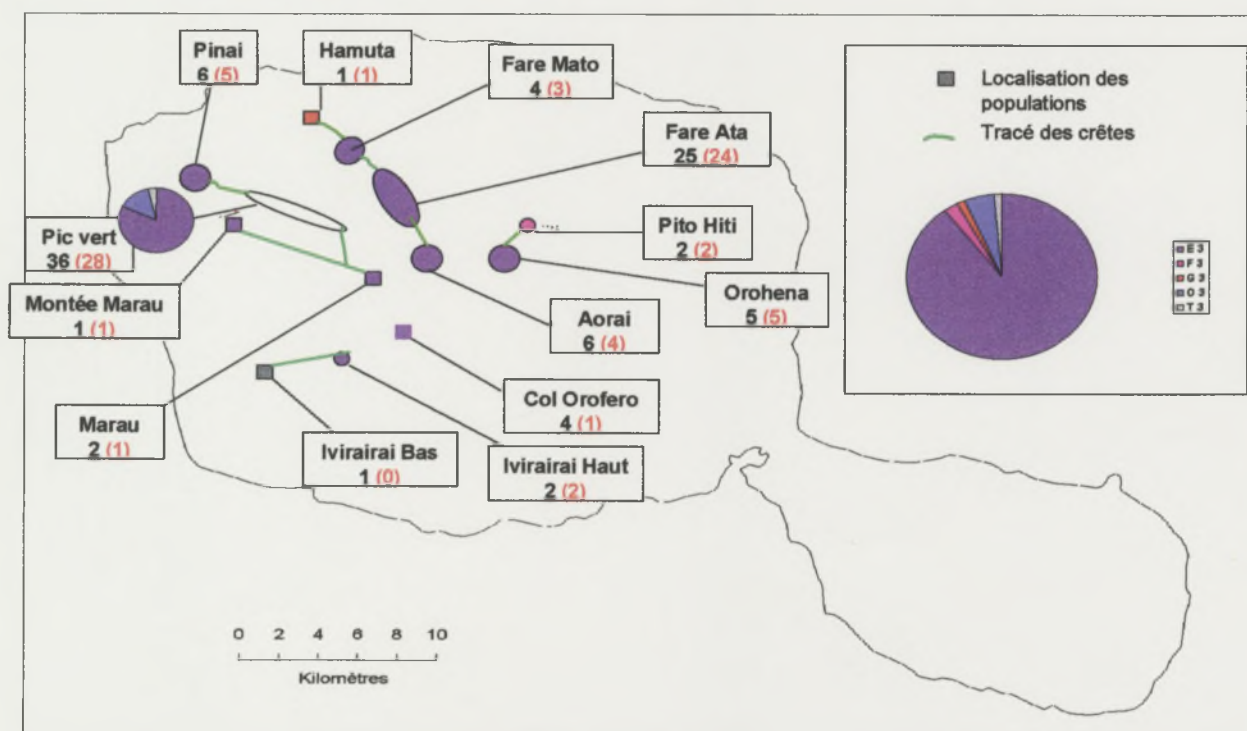
Carte 2 : Populations de Santalum insulaire de l'île de Nuku Hiva



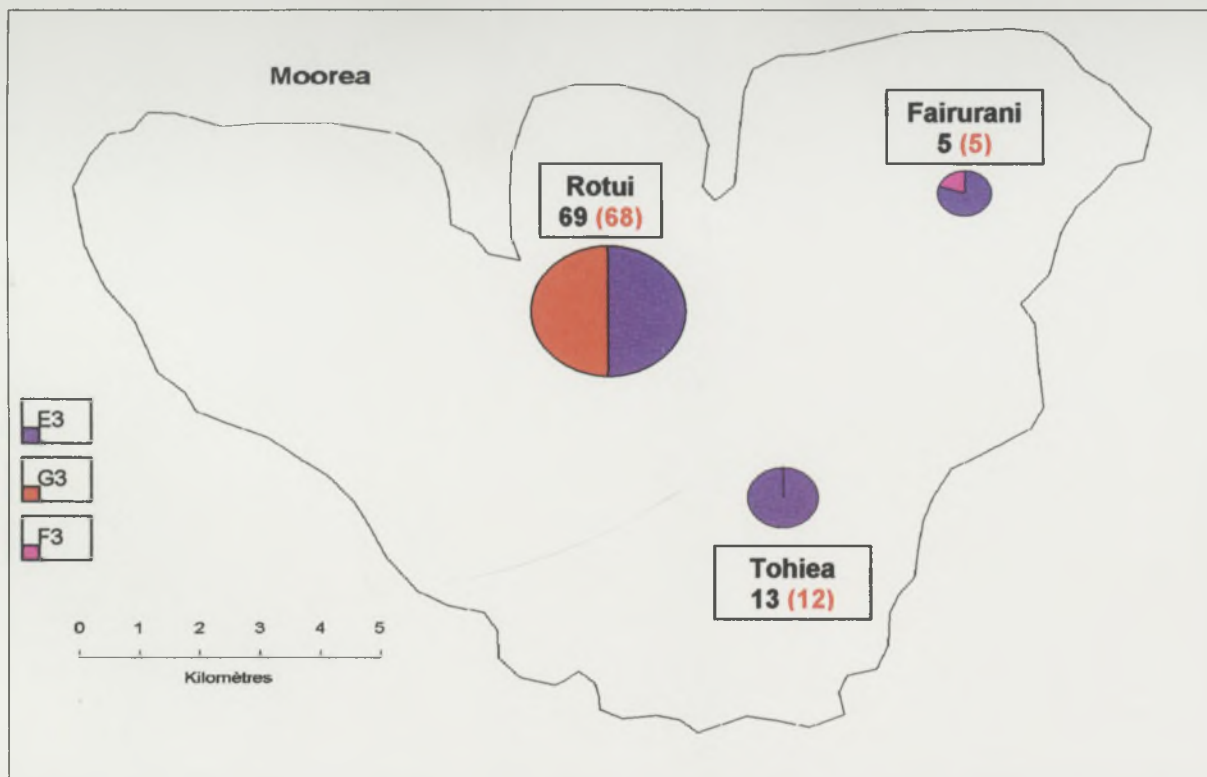
Répartition des chlorotypes sur l'île de Nuku Hiva



Répartition des chlorotypes sur l'île de Raiatea

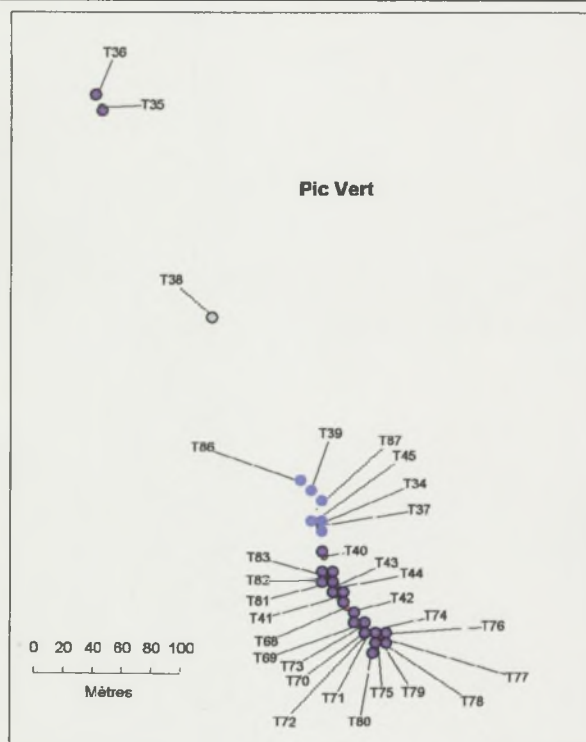


Répartition des chlorotypes sur l'île de Tahiti

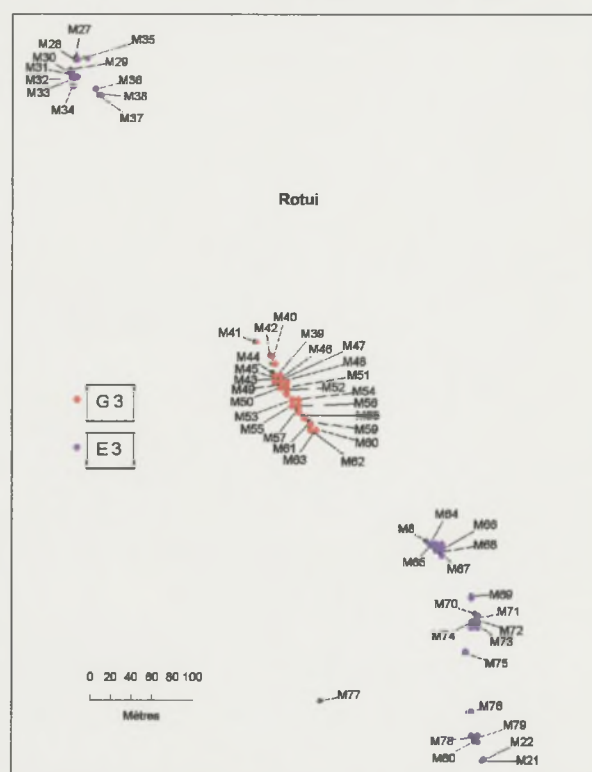


Répartition des chlorotypes sur l'île de Moorea

Répartition des chlorotypes dans la population du Pic vert (Tahiti)



Répartition des chlorotypes dans la population du Rotui (Moorea)



ANNEXE 6

Figure F1

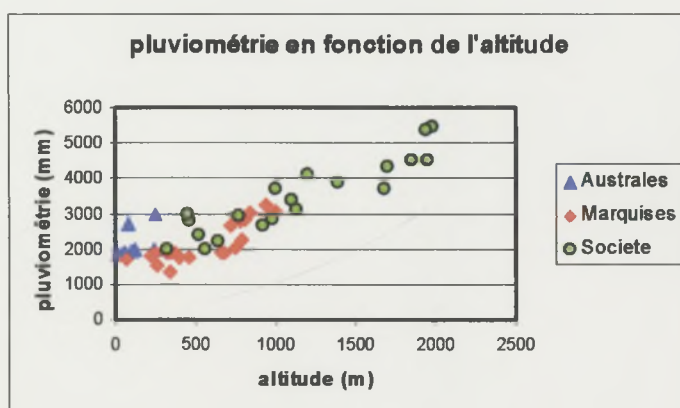


Tableau 18 : estimation des r , R^2 et probabilité associée dans l'analyse de régression linéaire

Variable Y	Variable(s) X	Représentation	r	R^2	Pvalue
		graphique			
Pluviométrie	Altitude	Figure F1	0.89	0.79	0.0001
long pétiole aux Australes	Altitude	Figure F2	0.26	0.07	0.37
long pétiole aux Marquises	Altitude	Figure F3	0.44	0.2	0.04
long pétiole à la Société	Altitude; Altitude ²	Figure F4	0.47	0.22	0.12
long pétiole à Tahiti	Température	Figure F5	0.37	0.14	0.17
long feuille aux Australes	Altitude	Figure F6	0.74	0.55	0.0024
long feuilles aux Marquises	Altitude	Figure F7	0.04	0.002	0.85
long feuilles à la Société	Altitude; Altitude ²	Figure F8	0.74	0.55	0.001
long feuilles à Tahiti	Température	Figure F9	0.29	0.08	0.3

Tableau 19 : estimation des r , R^2 et probabilité associée dans l'analyse de régression linéaire

Variable Y	Variable(s) X	Représentation	r	R^2	Pvalue
		Graphique			
Pluviométrie	Altitude		0.91	0.82	0.0001
long graines aux Australes	Altitude	Figure G1	0.34	0.11	0.34
long graines aux Marquises	Altitude	Figure G2	0.55	0.3	0.007
long graines à la Société	Altitude; Altitude ²	Figure G3	0.91	0.84	0.0001
long graines à Tahiti	Température	Figure G4	0.75	0.56	0.013

ANNEXE 7

Tableau 22 : Distances entre les barycentres des îles en kilomètres.

Distance (km)	Tahiti	Moorea	Raiatea	Raivavae	Rapa	Nuku Hiva	Ua Pou	Hiva Oa	Tahuata	Fatu Hiva
Tahiti										
Moorea	39									
Raiatea	225	186								
Raivavae	715	739	876							
Rapa	1225	1253	1401	532						
Nuku Hiva	1397	1426	1512	1850	2128					
Ua Pou	1365	1391	1484	1801	2073	56				
Hiva Oa	1422	1451	1554	1816	2058	156	120			
Tahuata	1406	1437	1541	1799	2040	164	123	18		
Fatu Hiva	1407	1441	1555	1770	1994	240	196	90	78	
Mitiaro	902	869	741	1133	1614	2249	2223	2294	2283	2296

ANNEXE 8 : TEST DE BONFERRONI

Tableau 23 : résultats du test de Bonferoni entre les archipels pour tous les caractères

Archipel	moy Lgr	moy largr	moy Lpet	moy Lf	moy larf
Marquises	23.7 _a	22.7 _a	11.2 _a	92.8 _a	49.6 _a
Société	20 _b	15.6 _b	7.7 _b	73.1 _b	39.9 _b
Australes	26 _c	18 _b	7.7 _b	76.7 _c	40.3 _b

Tableau 24 : Résultats du test de Bonferoni entre les îles pour les caractères feuilles

Archipel	Ile	moy Long pétiole (mm)	moy Long feuille (mm)	moy Larg feuille (mm)
Marquises	Hiva Oa	8.5 _a	98.4 _a	49.6 _a
	Nuku Hiva	11.8 _b	91.5 _b	49.6 _a
	Tahuata	10.4 _c	94.3 _b	49.9 _a
	Total	11.2	92.8	49.6
Société	Moorea	7.8 _a	77.9 _a	40.4 _a
	Raiatea	8.9 _b	63.5 _b	31.9 _b
	Tahiti	7.6 _a	71.9 _c	40.1 _a
	Total	7.7	73.1	39.9
Australes	Raivavae	7.8 _a	77.1 _a	40.7 _a
	Rapa	7.4 _a	71.1 _b	35.2 _b
	Total	7.7	76.7	40.3

Tableau 25 : résultats du test de Bonferroni entre les populations pour les caractères graines

Ile	Population	moy long graine	moy larg graine
Moorea	Tohiewa	20.5 _a	16.7 _a
	Rotui	17.9 _b	15.4 _a
Nuku Hiva	Rebord Toovii	29.8 _a	28.4 _a
	Vaioa	27 _{ab}	26 _{ab}
	Crête Toovii	26.6 _b	25.4 _b
	Haut TD	26.1 _a	24.9 _b
	Hakau	22.3 _c	20.9 _c
	Vaiteheii	19 _c	17.3 _c
Raivavae	Motu	19.3 _a	18.1 _a
	Anat Mouatapu	18.1 _a	16.5 _a
	Penins. Vaianaua	15.7 _b	14.6 _b
Tahiti	Col Orofero	23.3 _a	16 _a
	Pic Vert	20.6 _b	14.9 _b
	Haut Aorai	12.2 _c	8.5 _c
	Ivirairai	11.7 _c	7.8 _c

Nb : Au sein d'une même unité (population totale, archipel ou île) et pour chaque variable, les moyennes par archipel, île ou population qui ne sont pas significativement différentes selon le test de Bonferroni sont indexées par la même lettre (a, b ou c)

RESUME

Le santal de Polynésie française (*Santalum insulare*), est une espèce forestière insulaire à forte valeur patrimoniale et haut potentiel économique. Elle est actuellement menacée suite à sa surexploitation pour son bois de cœur. Une étude de diversité moléculaire et sur la variation des caractères quantitatifs a été réalisée pour mettre en évidence l'impact des forces évolutives et de l'exploitation. L'analyse moléculaire a permis d'émettre des hypothèses sur une colonisation du santal via l'archipel des Australes. Les archipels auraient par la suite évolués de manière isolée. Les flux de gènes semblent limités entre certaines îles. Au sein des îles, les caractères quantitatifs ont révélé une différenciation des populations en fonction de l'altitude. Ces données nous permettent d'émettre des recommandations pour la gestion de l'espèce basées sur la définition d'Unités Evolutives Significatives (ESU).

Mots Clés : *Santalum insulare* / insulaire / microsatellites chloroplastiques / diversité génétique / caractères quantitatifs / colonisation / flux de gènes / sélection / ESU / gestion.

ABSTRACT

The french Polynesian sandalwood (*Santalum insulare*) is an insular forest tree species with a strong patrimonial value and a high economical potential. Actually, it is threatened because of his over exploitation for his heart wood. A study about the molecular diversity and the variation of quantitative characters was conducted to emphasize the evolutionary forces and the exploitation impact. The molecular analysis permit to make hypotesis on a colonisation of the sandalwood via the Australe archipelago. After that, the archipelago would have evolved isolated. The gene flow seams to be limited between some islands. Within islands, the quantitative characters have revealed a differenciation between populations according to altitude. This data permit to make some recommandations for the management of these species on the basis of the definition of Evolutionary Significant Units (ESU).

Key Words : *Santalum insulare* / insular / chloroplast microsatellites / génétic diversity / quantitative characters / colonisation / gene flow / sélection / ESU / management.